bulb of the hair follicle. **Methods:** Human normal scalp skin was dissociated into epithelia of hair follicle and dermis with 0.5% collagenase. The epithelia of the hair follicle were cut into the superior, inferior fragment and bulb and dispersed to single cells by 0.125% trypsin and 0.02% EDTA. Then the cells of the 3 fragments were cultured respectively on a feeder cell layer from human dermal fibroblasts and passaged. **Results:** The keratinocytes from the superior fragment grew best, produced large number of colonies and showed the highest number of passages. The cells from the bulb grew poorly while those from the inferior fragment produced small number of colonies. **Conclusion:** The keratinocytes from the superior fragment of the hair follicle have the strongest proliferative potential, which supports the bulge-activation hypothesis.

Key words hair follicle; stem cell; epithelial cells

Foundation item: National Natural Science Foundation of China(39500131)

文章编号: 1000-5404(1999)11-0791-01

618环氧树脂平板在免疫电镜包埋中的应用

Use of 618 EPON plate in embeding of immune electromicroscopy

周 萍 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所分子生物学中心,重庆 400042)

免疫电镜超薄切片在样品的制备过程中过去常采用载玻片摊片,该法使硬化后摊在载玻片上的组织与样品头不易剥离,成功率较低,我们在工作中摸索应用618环氧树脂包埋剂制备的薄片进行摊片,较好的解决了剥离困难,提高了制样的成功率,现将该方法简介如下。

1 操作步骤

① 切片 10~20μm,用3%的戊二醛固定,如为包埋前染色则在染色后用冷二钾砷酸钠缓冲液漂洗,转入3%戊二醛固定;② 冷二钾砷酸钠缓冲液漂洗;③ 1% OsO_4 后固定 2 h;④ 50%,70%丙酮各脱水 8~10 min;⑤ 饱和醋酸铀过夜;⑥ 90%丙酮脱水 8~10 min;⑦ 100%丙酮脱水4次,每次 8~10 min;⑧ 环氧丙烷置换 10~15 min;⑨ 环氧丙烷∶618=1∶1,1 h 35℃~40℃;⑩纯包埋剂(不加 DMP-30),2 h 35℃~40℃;⑪包埋剂(加 DMP-30),3 h 35℃~40℃;⑫包埋:用已配好的618包埋剂倒在塑料包埋框背面,尽量让其平,薄。然后放入 60℃~70℃烤箱中硬化。制成大小不等的618包埋剂平板备用。

将已制作好的618载玻片平板放平。把已在包埋剂(加 DMP-30)中浸透好的厚片(10~20 ml)用小镊子夹起放在平板上(记住各厚片的编号)。用牙签把厚片辗平整。使其不卷屈,不皱折。然后用已废弃的包埋头后端放在辗平的原片上,放入烤箱过夜,升温至 60℃~70℃硬化 48 h。

2 体会

用618环氧树脂制备的平板代替过去用玻璃栽玻片来摊片,解决了包埋头子不易与玻璃栽片相分离的缺点。

用618环氧树脂制备的平板直接摊片,由于平板和废弃的包埋头子同质,因此能紧密牢固的结合,合制成的免疫电镜包埋块中的厚片平整,不卷屈,易于切出理想的片子来。

废弃的包埋头,节约材料,降低成本,具有经济实用的优点。

关键词 618环氧树脂;免疫电镜

中图法分类号 R446.8 文献标识码 B

参考文献

[1] 蔡文琴,王泊[illegible]云 主编.实用免疫细胞化学与核酸分子杂交技术[M].成都:四川科技出版社,P133-149.

[2] 蔡文琴.胶体金标记法在免疫细胞化学电镜的应用[J].解剖学杂志,1998,8(2):19-21.

[3] 孙 瑜,蔡文琴,李 巍,等.改良低温包埋胶体金免疫电镜技术[J].第三军医大学学报,1991,13(8):417-418.

(编辑 张大春)

作者简介:周 萍,女,35岁,主管技师

收稿日期:1999-06-15;修回日期:1999-09-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net