DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.05.033

不同温度下脱水对组织酶活性的影响

The effect of temperature during dehydration in slice preparation to the activity of some enzymes in tissue

许平庆 （第三军医大学基础部病理学教研室）重庆，630038

组织固定对酶活性的影响研究较多[1,2,3]，主要集中在不同固定剂对一些水解酶活性的影响，而组织脱水的温度对酶活性的影响研究较少[4]。因此，我们在这方面做了些工作，拟探索脱水时不同温度对酶活性的影响，从中找出酶活性的最适温度。报告如下：

1 材料和方法

健康雄性 Wistar 大鼠5只，活杀后取肝、脾、肾组织，立即投入4℃10%甲醛-钙固定液中，在4℃下固定15 h，经中性磷酸缓冲液漂洗。每只动物的每个脏器均切5份，编号。然后按下述方式用乙醇脱水。

第一组（或称较高温组）：各种标本3份，分别在12℃、4℃、0℃温度下脱水。步骤和时间为70%→85%→95%→100%乙醇各2 h。

第二组（或称低温组）：各种标本2份，分别在－20℃和－77℃温度下脱水，步骤及时间为95%→100%乙醇脱水，两步共15 h。

组织在上述5种温度下完成脱水后，再分别进入塑料液浸塑18 h(4℃)[5]，移入加有聚合剂的包埋液中，在4℃下聚合成块。用轮转式石蜡切片机切片，厚度为3 μm。上述切片同时在同一环境中做碱性磷酸酶、酸性磷酸酶、过氧化物酶、非特异性酯酶和5′-核苷酸酶反应。光镜观察各组切片的酶反应情况。

2 结果

比较两组切片的5种酶反应结果，发现有比较明显的差异。低温组切片中酶活性呈强阳生反应，明显高于较高温组切片中的酶活性，两组对照差别显著。每组中又因脱水温度不同，其切片中酶活性显著结果略有差异，但不显著。表明是低温脱水较高温脱水的组织切片能更好地保存酶活性。考虑到实际工作的条件，我们认为组织以－20℃脱水为宜。

3 讨论

目前，酶组化的研究多用恒冷切片，其切片厚度一般在6～8 μm，而4℃脱水的石蜡切片酶组化反应[4]，其切片厚度在4～6 μm。但在科研工作中，有时需要薄切片（3 μm 以下）做 HE、特染或某些水解酶的显示。用这种塑料包埋的切片[5]，可很容易的满足以上要求。塑料切片如同石蜡切片，组织需经固定和脱水过程，一般认为二者对酶活性均有一定影响，本文单就脱水时温度的影响做了些实验对观察。从我们的实验及在科研中实际应用所取得的结果看，认为组织在4℃下固定后，洗去组织内残留的甲醛，在－20℃下脱水，乙醇浓度应不低于95%，否则易结冰。也可用无水乙醇直接脱水，其时间应视组织块大小灵活掌握，均应数倍于常温脱水时间。

在4℃浸塑、常规切片3 μm，进行酶组化反应，其结果相当好。酶定位清晰，容易判断；方法简便易行，不需增加仪器设备。－20℃脱水传统的4℃脱水减少了步骤，仅需一夜时间即可完成，而且酶活性有所提高。因此，仅作一简要介绍以供同道参考。

关键词 酶组织化学；组织脱水；塑料切片

中图法分类号 R361.2

参考文献

1 武内忠男，小川和朗主编，朱逢春主译. 新酶组织化学. 北京：人民卫生出版社，1983：21～28

2 陈啸梅，周文郁，彭俊云等. 组织化学手册. 北京：人民卫生出版社，1982：105～107

3 AGE 尔斯著，马仲魁译. 组织化学理论和实用. 北京：人民卫生出版社，1985：123～128

4 Loida RZ, Gossrau TH. Schieblerenzyme hisfochemistry a laboratory ma: al. NewYork: Berlin Heidelberg, 1979: 40～44

5 许平庆. 916塑料包埋剂在病理技术中应用的体会. 第三军医大学学报，1993；15(5)：452

（收稿：1994-12-11；修回：1995-07-28）

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