DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.01.026

参考文献

1 李兆申,金山丛,许国铭,等.制作大鼠萎缩生胃炎模型的实验研究.中华医学杂志,1992,72(2):81

2 Shao Fang, Huang Zhongqin. Extended Abstract in 177th Meeting of the Electrochemical Soc. Motreal. Canada, May 6～11,1990

3 朱秀昌.等离子体聚合法.高分子通报,1991,1(6):6～11

(收稿:1994-07-15;修回:1994-11-28)

一种改良的人淋巴细胞微核染色法

An improved staning method for micronuclei of the human lymphocytes

杨录军 曹 佳 (第三军医大学预防医学系分子毒理实验室) 630038

淋巴细胞微核试验是常用的评价各种损伤因子的致突变效应的试验,目前广泛用于暴露人群受到的遗传损害和各种理化因子的诱变和潜在的致癌效应,具有经济、简便、快速的特点。1985年,Fenech等人建立了胞质分裂阻滞微核法(cytokinesis-block micronucleus method),简称CB微核法[1]。在我国其试验过程一般是将人外周血进行诱变处理后,微量全血培养法培养72 h(CB微核法需在44 h加入胞质分裂阻断剂——松胞素-B),经低渗、固定,最后将浓集的淋巴细胞涂片、镜检,进行数据分析[2]。但我们在实验中发现,淋巴细胞经过72 h的培养增生后,胞质中合成了大量的RNA、蛋白质等,染色后镜下可见细胞内含有大量的蓝色、深蓝色的粗糙颗粒状、絮状物。这些物质甚至包绕在细胞核上。在这种情况下,对要辩认出细胞中大小为主核的1/3～1/16的微核来说,有时是非常困难的。

我们在长期的微核试验中总结出一个改良的染色法。我们参考姐妹染色体交换试验(也是一种诱变检测试验,简称SCE试验)的染色方法[3,4],并加以改进,用于淋巴细胞微核试验,染色效果很好。具体方法是:

(1)涂片彻底干燥后,放入染片缸中,加入纯甲醇固定30 min。这个过程可以使细胞牢固地贴附在载玻片上,不致在后面的水育过程中脱落;

(2)倾去甲醇,放入70～80℃的烘箱中烘1 h,进行老化处理;

(3)取出稍稍冷却后,加入2×SSC液置于60℃的水育器中温育1 h;

(4)倾去2×SSC液,加入pH6.4,浓度为3%的Gimsa染液,染30 min。

染后镜下可见,胞浆染成淡淡的浅蓝色或灰蓝色,胞核、微核染成鲜红色,即使是结构疏松的微核也会染成淡红色,与胞浆的浅蓝色、灰蓝色形成鲜明的对比,区别明显;小的微核染成小小的红点,也可以轻松地辩别出来。

这个方法染出的片子色泽鲜艳,细节清晰,微核易于辨别,因而缩短了阅片时间,提高了阅片质量;更重要的是提高了检测结果的可靠性、准确性。但本染色法同原染色法一样都要避免细胞涂得太厚,以免太多的细胞碎片等杂物影响镜下片子的清晰度。

关键词 淋巴细胞;微核;染剂和染色法

中图法分类号 R446.5

参考文献

1 Fenech M. The cytokinesis-block micronucleus technique: A detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. Mutation Res, 1993,285:35～44

2 薛开先,沈宗丽,马国建.培养人淋巴细胞分裂阻滞与常规微核测试法的比较研究.遗传学报,1991,18(1):12～16

3 刘毓谷.卫生毒理学基础.北京:人民卫生出版社,1987:196～198

4 Perry P, Wolf S. New Gimsa method for differential staining of sister chromatids. Nature,1974,251:156～158

(收稿:1994-11-16;修回:1995-01-02)

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