DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.06.025



量调整，致伤方式较恒定，可重复；(2)可模拟不同距离的颌面部爆炸伤；(3)可模拟颌面部爆炸伤的远达效应。

3.3 意义

该模型能较好地模拟爆炸能量的质和形式，爆炸量也较恒定，同一致伤条件下所造成的颌面部爆炸伤重复性好，具有一定的实用性和实验价值，适合于颌面部爆炸伤组织病理特点，组织坏死范围判定，伤区血管、神经、骨损伤效应及早期修复可行性等系列实验研究。

**关键词** 颌/损伤；面部损伤；爆炸伤；疾病模型，动物；狗

**中图法分类号** R782.4

## 参考文献

1 [苏]M. И. 库津，Б. М. 科斯秋切诺克. 创伤和创伤感染. 第1版，北京：解放军出版社，1985：7

2 东耀峻，汪传铎，汪香莲. 非武器性口腔颌面部爆炸伤：附23例临床分析. 华西口腔医学杂志，1991，9(1)：57～58

3 谭颖徽，周树夏，刘荫秋，等. 颌面部投射物损伤的动物模型介绍. 华西口腔医学杂志，1990，8(2)：146

4 刘荫秋，王正国，马玉媛，等. 创伤弹道学. 第1版，北京：人民军医出版社，1991：27～28

(收稿：1993-12-25；修回：1994-10-04)

# 改良的人体外周血淋巴细胞的培养与染色体标本的制作技术

# An improved method to culture human peripheral lymphocytes and to prepare chromosome specimen

肖正华 (第三军医大学检验系分析化学教研室) 630038

在人类遗传学研究中，外周血淋巴细胞的培养和染色体的制作是一门非常重要的基本技术。我们在长期应用中发现用传统方法[1,2]制出的染色体标本不是很理想，如背景不清洁，分裂相少等，不利于对染色体的观察和摄影以及以后的一些技术处理，给染色体研究带来很大困难。为了解决这些问题，我们对原有方法进行了一些改良，取得了良好的效果。

## 1 对红细胞的处理

### 1.1 低温过夜法

目前，多数实验室均采用半微量全血培养法培养外周血淋巴细胞。在这一方法中，红细胞的存在，不但消耗大量培养液，还由于采取的外周血中$CO_2$浓度本身较高，加上培养过程中还要放出$CO_2$，特别是在设备并不先进的情况下，很难对$CO_2$浓度进行有效的控制，从而使培养液的pH值大幅度下降(培养液的正常pH值为7.2～7.4)，同时，细胞的溶解作用和渗透性的改变也将使培养液的电解质成分发生改变，这些都会严重影响到淋巴细胞的正常生长。

我们采用将无菌血置4℃冰箱中过夜后再进行培养的方法，让一部分已衰老的红细胞在培养前就死亡，以减少红细胞量。这样，在培养过程中pH值才不至于有太大的变化。

### 1.2 冰醋酸法

红细胞的存在既不利于培养，也不利于固定和制片。我们参考了Ibraimov的方法，在低渗离心后，用细尖吸管吸取新鲜配制的5%冰醋酸溶液8 ml，插入离心管底部，突然将冰醋酸溶液喷出，并轻轻吹打溶液，使其与细胞混匀，静置5 min后，轻轻打匀离心、固定。这一步骤的加入，不但能有效地消除红细胞及其它杂质的存在，同时还能阻止低渗作用的继续进行[3]。

## 2 对低渗时间和离心速度的处理

关于低渗时间，以往有各种报道，我们发现：低渗时间过短，到最后细胞不易破裂；而低渗时间过长，在后续步骤中很容易造成细胞过早破裂，使染色体丢失。我们通过多次实验，觉得15 min左右的低渗，效果较好。

另外，由于低渗后细胞容易破裂，所以在低渗前后的离心速度应有所区别。我们采取低渗前用1 500 rpm离心，低渗后用1 000 rpm离心。这样，既能减少淋巴细胞的丢失，又能防止细胞过早破裂。

总的来说，用经过改良的方法培养制得的染色体标本与用传统方法制得的染色体标本相比，确有很大不同。用新方法制得的染色体标本不但分裂相多，染色体分散良好，而且背景干净，利于观察和摄影，特别是为以后的银染、显带、BSG等技术处理带来了诸多方便。

**关键词** 遗传技术；染色体；淋巴细胞

**中图法分类号** R394-33

## 参考文献

1 张若麟，秦 龙，李汝菁，等编译. 人类染色体方法学. 石家庄：河北人民出版社，1981：102～106

2 尚克刚. (人类)外周血淋巴细胞的培养与染色体的制备. 见：吴鹤龄，林锦湖，主编. 遗传学实验方法和技术. 北京：高等教育出版社，1983：170～173

3 周焕庚. 人体外周血白细胞的培养与染色体标本制作方法. 见：刘权章，主编. 人类染色体方法学. 北京：人民卫生出版社，1992：233

(收稿：1994-03-14；修回：1994-09-16)

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