DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.05.023

铁明矾 2.5g

Walpole氏醋酸钠-盐酸缓冲液（pH0.65）300ml

甘油 15ml

天青石蓝B 1g

用时取M/L醋酸钠液100ml，加N/L盐酸200ml，再加蒸馏水至500ml，即为pH 0.65的缓冲液。配制好后pH如有变化，需再次调整，这对胞核染色的选择性很重要。若pH＜0.60，则胞核不易着色，若pH＞0.80，背景呈灰蓝色。

体 会

上述染色液的配方，经我们几年来的使用，认为天青石蓝B作为核染色剂使用，具有以下优点。

（1）染色操作简便，染色时间范围宽。一般只需2min～5min，不需分化、蓝化，不会过染；染后在水中略洗，即可与伊红相配作为常规染色。对经验较少者也能染出较高质量的HE切片。

（2）可作为特殊染色或组化染色中的核染色剂，如用于V·G染色中、酶组化的核染色。

（3）着色后的胞核耐酸性好，不易退色。

（4）染液稳定，表面不易产生氧化物，提高了切片的清洁度。

用一段时间后，溶液pH值会略有改变，需调整pH，以染色背景无色为度。这一染液主要是利用它在pH0.60～0.65值时，染料中的阳离子与细胞核阴离子选择性的结合，所形成的一种铁淀色料。所以，严格控制pH值，对染色是很重要的。

因此染色液不需分化、蓝化，可适用于“生物组织切片自动染色机”，对提高机械化染色有一定帮助。

（本文经史景泉、陈意生教授审阅，特此致谢）。

关键词 细胞染色；核/染色；天青石蓝B/染色

参 考 文 献

1. Bancroft JD,Stevens A. Histopathological stains and their diagnostic uses. London 1975:2

2. 王 文（译）。生物学染色剂。北京：科学出版社出版，1958:95

（收稿：1991.01.31；修回：1991.03.27）

用反相高效液相色谱法测定多胺

陈兆珍 杜军英*（第三军医大学训练部 中心实验室）

多胺是1类含有两个或两个以上氨基或亚氨基的脂肪族化合物。主要包括腐胺，精脒和精胺。它广泛存在于生物体内，是细胞生长和繁殖的重要调节因素。并且对DNA、RNA及蛋白代谢均有很大影响。我们根据Skaaden和Greibokk[1]及赵鹏等[2]方法，改用国产色谱柱建立了OPA柱前衍生，反相高效液相色谱分离测定多胺含量的方法。衍生过程是：当无荧

* 青海医学院病生教研室

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

光的多胺在疏基乙醇存在下与OPA反应生成具有很强荧光的吲哚类物质[1]。

1 材 料 和 方 法

1.1 仪器

美国P-E公司系列Ⅱ型高效液相色谱仪，LC-1000荧光检测器，7105进样阀，日本岛津公司C-RIB色谱数据处理机。

1.2 主要试剂

甲醇，三乙胺，1.6已二胺（内标），国产AR；2-疏基乙醇，国产CR；OPA（邻苯二甲醛），精脒瑞士Fluka；Brij-35英国Koin-Light LabLidi腐胺，精胺美国Sigma。

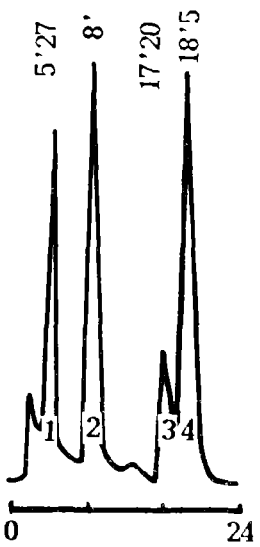


图1 多胺标准色谱图

1:精胺 2:精脒 3:腐胺 4:内标(40nmol/ml)

1.3 分析柱ODS（4×250mm）5μm大连物化所

流动相①甲醇65%～90%；②磷酸缓冲液0.4mol～0.54mol；③三乙胺0.02mol～0.09mol。用0.45μ微孔滤膜过滤，真空泵脱气。梯度用21min完成。流量1ml/min，室温，检测波长E×345nm，Em445nm。灵敏度×100。

1.4 衍生剂的配制

A液：OPA 100mg，Brij～35,50mg，2-疏基乙醇50μl加甲醇10ml混合。

B液：0.4mol硼酸缓冲液，用2N KOH调节pH为10。两液在使用前按1.5（V:V）混合组成衍生溶液避光贮存。

1.5 方法

取样品（或标准品）100μl加等体积衍生剂充分振荡30s，室温静置45s。取20μl进样。色谱图见图1。用保留时间时间法窗定性，用C-RIB数据处理机内标法定量。

2 结 果

2.1 线性范围和最小检测限

按不同浓度标准混合样品以相同浓度进样，以多胺面积（Ai）与内标面积（As）对多胺浓度作图。见图2。经作回归分析相关系数r：分别为腐胺0.9975精脒0.9993精胺0.9878，P均<0.01。最小检测限腐胺25pmol，精脒5pmol，精胺5pmol。

2.2 重复性和回收率试验(见附表)

3 讨 论

3.1 我们根据赵鹏等方法使用国产色谱柱先进行恒溶剂洗脱，发现精胺和精脒分离不好。后参考Skaaden法改为三溶剂成分的二元梯度，并且选用了65%～90%的甲醇梯度结果回收率平均在90%以上，重现性与原法接近、保留时间比原法较长。原因是我们是在室温里分析的，因为温度愈高衍生物愈易降解会影响分析的稳定性。

3.2 最小检测限比原法略高估计与所使用检测器型号和灵敏度以及色谱柱有关。

3.3 多胺分析结果的好坏很大程度上取决于衍生反应的程度及反应的稳定性。对反应时间，温度，衍生剂的组成以及pH值需严格控制。本法所选择的色谱条件和衍生反应条件对三

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

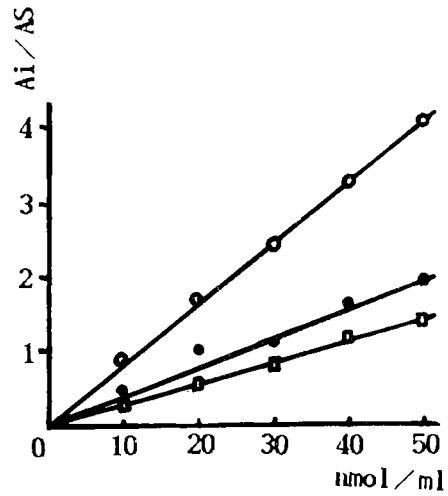


图 2 校正曲线
○精脒 ●精胺 □腐胺

附表 多胺组分的变异系数和回收率

多胺	变异系数(%)n=11	回收率(%)n=7
腐胺	9.92	87.0
精脒	5.60	90.4
精胺	4.30	92.9

种多胺分离较好，不受杂峰干扰。

3.4 我们用此方法对动物肺，动脉和心肌等组织进行了多胺含量测定结果很好。因此本方法可作为临床和实验室快速测定人和动物组织中多胺含量的1种好方法。

关键词 液相色谱/分析；多胺；高效应

参 考 文 献

1. Skaaden T, Greihrokk T. Determination of Polyamines by Per-Column Derivatization with o-Phthalaldehyde and ethanethiol with reversed-Phese high. Performance liquid Chromatography, J Chromatogr 1982; 247:111～222
2. 赵鹏 何崇乐 陈俊玲，等。反相高效液相色谱分析生理多胺。色谱 1988;6(1):51～53

(收稿：1991.01.29；修回：1991.06.18)

丘脑生殖细胞瘤一例报告

冯 华 王宪荣 张存生（第三军医大学西南医院 脑外科）630038

丘脑生殖细胞瘤罕见，现报道一例于下。

患儿，男，11岁。因右侧肢体不全偏瘫1例入院。查体：神清语畅，视乳头边界清楚，右侧肢体轻瘫及痛温觉减退；无性早熟征象。CT示左丘脑多个环状影，约7.9cm×3.6cm，环内CT值17Hu，环壁增强前后CT值分别为36Hu及49Hu。全麻下行丘脑肿瘤大部切除术，肿瘤呈鱼肉样，无包膜，有20ml囊液。术后恢复顺利。病理诊断生殖细胞瘤。术后血HCG（人绒毛膜促性腺激素）2 ng/ml，AFP（甲胎蛋白）<31ng/ml，CEA（癌胚抗原）(-)。脑脊液未查到瘤细胞。术后放疗，病灶区19Gy/s，全脑21Gy/s，脊髓20Gy/s。放疗后偏瘫好转。2年后门诊复查偏瘫已完全恢复。

讨 论

国内文献中生殖细胞瘤占颅内肿瘤的1.4%，日本4%[1]。Ono[2]复习文献中生殖细胞瘤379例，其中松果体区270例，鞍区66例，基底节区28例。我科近年共收治生殖细胞瘤15例，其中松果体区12例，鞍上2

(下转480页)

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