

贝类血细胞硫代黄素 T 荧光染色方法

王宜艳 宋晓娜 付静芸 孙虎山

鲁东大学生命科学学院 烟台 264025

摘要:硫代黄素 T (thioflavin T, TFT) 是一种用于组织学的苯并噻唑荧光染料, 因其对淀粉样蛋白有高亲和性而主要被用于淀粉样病变的荧光显微检测。本研究分别以软体动物门双壳纲的栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 和中国蛤蜊 (*Macra chinensis*)、腹足纲的拟紫口玉螺 (*Natica janthostomoides*) 及头足纲的短蛸 (*Octopus variabilis*) 4 种软体动物为实验材料, 对贝类血细胞的 TFT 染色方法进行了探讨。4 种贝类血细胞经 0.1% 的 TFT 染色后, 荧光显微镜下多呈黄绿色荧光, 细胞轮廓清晰, 细胞核及胞质中的颗粒与细胞质背景区分明显。4 种贝类的血细胞均可根据细胞质内是否存在颗粒区分为无颗粒细胞和颗粒细胞两大类型, 其中栉孔扇贝、中国蛤蜊及短蛸的无颗粒细胞可分为透明细胞和成血细胞两种亚型; 颗粒细胞根据其颗粒的大小可分为小颗粒细胞和大颗粒细胞两种亚型。贝类血细胞 TFT 染色方法简单易操作, 染色后荧光不易减弱, 其标本可供长时间的观察。本研究首次尝试将 TFT 用于贝类血细胞的形态观察及类型区分的研究, 表明 TFT 荧光染色是贝类血细胞观察与分类的一种好方法。

关键词: 贝类; 血细胞; 硫代黄素 T; 荧光染色

中图分类号: Q954 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2011)06-40-06

The Fluorescent Staining of Mollusks Haemocytes with Thioflavin T

WANG Yi-Yan SONG Xiao-Na FU Jing-Yun SUN Hu-Shan

College of Life Sciences, Ludong University, Yantai 264025, China

Abstract: Thioflavin (TFT), a benzothiazole fluorescent dye, is able to selectively stain amyloid structures and is mainly used to detect amyloidosis using fluorescence microscopy. In this study, the circulating hemocytes of four species of mollusks, *Chlamys farreri* (Bivalvia), *Macra chinensis* (Bivalvia), *Natica janthostomoides* (Gastropoda) and *Octopus variabilis* (Cephalopoda), were observed in order to develop the fluorescence staining method of mollusks haemocytes with TFT. Under fluorescence microscope, haemocytes of four mollusks showed yellow-green fluorescence after treatment with 0.1% TFT. The outlines of the cells were clear; the nuclei and granules in the cytoplasm were clearly distinguishable. The haemocytes of all four mollusks could be divided into two types, granulocytes and agranulocytes, based on whether cytoplasmic granules could be observed. In scallop, clam and octopus, the agranulocytes could be subdivided into hyalinocytes and haemoblasts, while the granulocytes could be subdivided into small granulocytes and large granulocytes according to the size of granules in the cytoplasm. The fluorescence staining method of mollusks haemocytes with TFT is easy to operate, and the samples can be observed for a long time after staining because the fluorescence is not easy to bleach. This study is the first to use TFT in the morphological characterization and classification of mollusks haemocytes, and suggests that TFT fluorescence staining is a good method for the observation and classification of mollusks haemocytes.

Key words: Mollusks; Haemocytes; Thioflavin T; Fluorescence staining

基金项目 山东省自然科学基金项目 (No. ZR2010CM017);

第一作者介绍 王宜艳, 女, 教授; 研究方向: 无脊椎动物免疫学; E-mail: yiyawang@163.com。

收稿日期: 2011-05-18, 修回日期: 2011-09-02

贝类的血细胞对外来异物有吞噬和包裹化作用,并且能合成和释放多种免疫因子参与免疫,在机体的天然免疫中起着重要的作用。目前,贝类血细胞形态结构观察的方法有多种,包括相差显微镜活体细胞直接观察法;借鉴高等动物血细胞形态观察及分类常用的瑞氏和吉姆萨染色方法;利用组织化学及细胞化学技术根据血细胞的细胞化学特征区分不同类型血细胞的方法^[1-3];中性红、甲苯胺蓝、罗曼诺夫斯基(Romanowsky)、利什曼(Leishmans)染色技术及吖啶橙等荧光染色技术也有应用^[2-3]。有关贝类血细胞的形态、结构及分型方面虽已有不少研究进展,但贝类血细胞组成成分复杂、形态多样,不同种类间存在一定差异,用于形态观察及分类的方法也较多样,目前尚缺少一种公认的染色方法和分类标准,因而显然尚未建立一个统一的贝类血细胞的分类系统^[4]。

硫代黄素 T(thioflavin T, TFT), 化学名称为 2-[4-(二甲基氨基)苯基]-3,6-二甲基苯并噻唑氯化物[3,6-dimethyl-2-(4-dimethylaminophenyl)-benzothiazoliumcation], 分子式为 $C_{17}H_{19}ClN_2S$ ^[5]。TFT 为黄色结晶性粉末,易溶于热水、乙醇,其水溶液呈黄色。TFT 是一种用于组织学的苯并噻唑荧光染料,因其对淀粉样蛋白有高亲和性和特异性而主要被用于淀粉样病变的荧光显微镜检测。脑组织神经元周围存在淀粉样蛋白纤维是阿尔茨海默病、帕金森病等一些神经退行性疾病的特点,其他某些组织中的淀粉样病变可造成慢性炎症疾病,因而 TFT 在相关疾病诊断及病理研究中有重要作用^[6-7]。TFT 在血细胞分类方面也有应用,但仅见许屏等将 TFT 荧光染色方法用于哺乳动物淋巴细胞和巨噬细胞分类^[8-10]的报道。

本研究首次尝试将 TFT 荧光染料用于贝类血细胞的形态观察。分别选取软体动物门双壳纲的栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)和中国蛤蜊(*Macra chinensis*)、腹足纲的拟紫口玉螺(*Natica janthostomoides*)及头足纲的短蛸(*Octopus variabilis*)4 种软体动物为实验材料,对贝类血细胞 TFT 染色的方法进行了研究探

讨,以期为贝类血细胞形态观察及分类研究提供新的方法和基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料 在烟台市芝罘区水产市场购买健康的栉孔扇贝 20 只(平均壳长 60 mm)、中国蛤蜊 30 只(平均壳长 50 mm)、拟紫口玉螺 10 只(平均壳高 38 mm)和短蛸 8 只(平均全长 180 mm),购回后室内玻璃水族箱中加新鲜砂滤海水充气暂养,每天换水一次。

TFT 为 Fluka 公司产品,其他试剂均为国产分析纯。荧光显微镜为 Olympus BX50,数码摄像系统为 Olympus DP70。

1.2 方法

1.2.1 血淋巴的抽取 用预冷的无菌的 5 号针头和 5 ml 注射器,先用无菌的 2% NaCl 溶液润湿注射器,然后分别抽取血淋巴。栉孔扇贝和中国蛤蜊抽取血淋巴的部位是闭壳肌血窦;拟紫口玉螺的取血部位为足窦,当其足部充分舒张时轻轻拿住其贝壳,将针头插入足的中央部位抽取;短蛸取血时要将其外套膜剪开一小口,暴露心和鳃部,自出鳃血管或前大动脉中抽取血淋巴。

1.2.2 血涂片的制作及 TFT 染色 分别采取血涂片湿染和干染两种制片方法。湿染的方法为,取洁净干燥的载玻片,用牙签蘸取液体石蜡,在载玻片的正中央画一个正方形,大小比盖玻片略小,滴一滴血淋巴于石蜡封闭的方形框内,再滴上一滴 0.1% 的 TFT 水溶液,加盖玻片静置 10 min 后荧光显微镜下观察。干染的方法为,将抽取的血淋巴立即滴在洁净干燥的载玻片中央,用滴管轻轻涂抹以分散血淋巴,静置空气干燥后滴加 0.1% 的 TFT 水溶液,染色 10 min 后用 2% 的 NaCl 冲洗 3 次后加盖玻片荧光显微镜下观察。

1.2.3 TFT 染色条件的筛选 以双蒸水为溶剂,分别配制 0.05%、0.1%、0.5%、1% 的 TFT 染液,每个浓度分别进行 5 只栉孔扇贝,每只 2 张共 10 张血淋巴涂片的染色,镜检观察染色效果以探讨适宜的 TFT 染色液浓度。

分别以双蒸水和2% NaCl 为溶剂,配制0.1%的TFT 染液,各进行5只栉孔扇贝每只2张共10张血淋巴涂片的染色,镜检观察染色结果、测量血细胞及核的直径,比较同类型血细胞不同染色条件下的大小以探讨适宜的TFT 溶剂。

2 结 果

2.1 不同染色条件对栉孔扇贝血细胞染色结果的影响

4种浓度TFT 染色条件下,栉孔扇贝血细胞的形态及部分内部结构荧光显微镜下均可见。在1%和0.5%浓度组,核和胞质及颗粒均呈不同程度的黄色荧光,血细胞的内部结构模糊、核和颗粒等分辨不够清晰,长时间观察时片中易存在TFT 结晶;0.05%浓度组血细胞的黄绿色荧光太弱;TFT 的浓度为0.1%时,荧光显微镜下血细胞轮廓清晰,细胞核及胞质中的颗粒与细胞质背景有明显反差,可以清楚地区分出胞质中是否含有颗粒及颗粒的大小和分布,片中也无TFT 的结晶,因此浓度为0.1%的TFT 是适宜的染液浓度。用上述不同浓度的TFT 分别对中国蛤蜊、拟紫口玉螺和短蛸的少量血淋巴涂片进行染色观察的结果与用栉孔扇贝得到的结果相同,也是0.1% TFT 是适宜的染液浓度。

含2%的NaCl 和不含NaCl 的0.1%的TFT 染色后,栉孔扇贝的各类血细胞的大小和形态无差异,故双蒸水和2% NaCl 均可作为溶剂,本实验选用双蒸水为溶剂。

2.2 栉孔扇贝血细胞TFT 染色后的观察结果

栉孔扇贝血涂片经0.1%的TFT 湿染后,荧光显微镜下观察结果见图版I:1~4。镜下血细胞多呈黄绿色荧光,胞质呈浅绿色荧光,核为黄绿色或黄色荧光,颗粒为黄色、黄绿色、橘黄色或橘红色;细胞大多数为圆形或椭圆形,核及胞质中的颗粒清晰可见。根据细胞质内是否存在颗粒可将栉孔扇贝的血细胞分为颗粒细胞和无颗粒细胞两大类。颗粒细胞根据胞质中颗粒的大小可分为小颗粒细胞和大颗粒细胞两种亚型;根据细胞及核质比的大小将无颗粒细胞分为透明细胞和成血细胞两种亚型。

颗粒细胞的直径为7~13 μm ,平均为 $(12.07 \pm 1.32) \mu\text{m}$,其核的平均直径为 $(5.46 \pm 0.99) \mu\text{m}$,核质比平均为 0.45 ± 0.09 ($n = 18$),包括小颗粒细胞和大颗粒细胞两种亚型。大颗粒细胞胞质中的颗粒直径多在0.5~1.3 μm 之间,多数颗粒细小,仅几个颗粒直径在1 μm 以上(图版I:1,2);小颗粒细胞的颗粒细小,在胞质中分散分布,颗粒直径多在0.3~0.8 μm 之间,无1 μm 以上的大颗粒(图版I:3)。大小颗粒细胞的直径及核质比无明显差异,大颗粒细胞的数目明显少于小颗粒细胞。

无颗粒细胞包括透明细胞和成血细胞两种亚型(图版I:1,3,4)。透明细胞数量较多,细胞多为椭圆形,细胞直径8~13 μm ,平均 $(10.00 \pm 1.43) \mu\text{m}$ ($n = 10$),胞质中几乎未见有颗粒,胞质多呈浅绿色,细胞核呈圆形,核直径4~6 μm ,平均 $(5.56 \pm 0.96) \mu\text{m}$ ($n = 10$),位置多数偏向一边,着色较深,多呈深绿色,平均核质比值为 0.49 ± 0.10 ($n = 10$)。成血细胞多为圆形,细胞相对较小,直径5~8 μm ,平均 $(6.37 \pm 1.13) \mu\text{m}$ ($n = 10$),细胞核呈黄绿色荧光,而其外包围着薄膜状的呈绿色荧光的细胞质,核质比是4类细胞中最大的,其平均值为 0.85 ± 1.10 ($n = 10$),偶见有双核细胞(图版I:3,4)。

2.3 拟紫口玉螺血细胞TFT 染色后的观察结果

拟紫口玉螺血涂片经0.1%的TFT 湿染后荧光显微镜下观察结果见图版I:5,6。镜下血细胞可明显被区分为颗粒细胞和无颗粒细胞两大类,细胞胞质、核及颗粒荧光颜色与栉孔扇贝相同。颗粒细胞中大小颗粒细胞区分明显,大颗粒细胞较大,直径为16~24 μm ,平均直径 $(17.52 \pm 2.30) \mu\text{m}$,核平均直径 $(6.75 \pm 1.91) \mu\text{m}$,平均核质比为 0.40 ± 1.11 ($n = 10$)。其胞质中有或多或少的大颗粒,有的细胞仅含2~4个大颗粒,有的细胞大颗粒几乎充满整个细胞,颗粒直径1~3 μm ,几乎不含1 μm 以下的细小颗粒(图版I:5)。小颗粒细胞明显小于大颗粒细胞,直径9~11 μm ,平均 $(9.25 \pm 0.76) \mu\text{m}$,平均核质比为 0.56 ± 0.07 ($n = 10$)。其胞质中的颗

粒细小,颗粒直径 $0.3 \sim 0.8 \mu\text{m}$ (图版 I:6)。透明细胞胞质透明,细胞直径 $9 \sim 17 \mu\text{m}$, 平均 $(13.81 \pm 2.18) \mu\text{m}$, 核平均直径 $(7.90 \pm 1.13) \mu\text{m}$, 核质比平均为 0.59 ± 0.65 ($n = 10$) (图版 I:5)。可见到核质比较大的成血细胞,其直径为 $4 \sim 6 \mu\text{m}$ 。还可见到一种大小似成血细胞的小细胞,平均直径为 $(5.13 \pm 0.90) \mu\text{m}$,但其核较小,核平均直径约 $(2.35 \pm 0.18) \mu\text{m}$ ($n = 8$)。

2.4 短蛸血细胞 TFT 染色后的观察结果 短蛸血涂片经 0.1% 的 TFT 湿染后荧光显微镜下观察结果见图版 I:7~9。与栉孔扇贝和拟紫口玉螺相比,短蛸血细胞荧光中的黄色成分更多些,胞质呈淡的黄绿色荧光,核多呈黄色荧光,颗粒主要呈黄色或黄绿色荧光。上述 4 种血细胞类型在短蛸中均可见到,其中,小颗粒细胞数目最多,成血细胞数目最少。短蛸的大颗粒细胞直径为 $12 \sim 18 \mu\text{m}$,平均 $(15.17 \pm 0.93) \mu\text{m}$,核质比为 0.58 ± 0.08 ($n = 10$),其胞质中含数目不等的大颗粒和小颗粒,大颗粒直径 $1 \sim 3 \mu\text{m}$ (图版 I:7)。小颗粒细胞直径 $11 \sim 17 \mu\text{m}$,平均 $(14.47 \pm 0.42) \mu\text{m}$,核质比为 0.50 ± 0.04 ($n = 10$),其颗粒细小,直径均在 $1 \mu\text{m}$ 以下(图版 I:8)。透明细胞直径 $11 \sim 17 \mu\text{m}$,平均 $(12.80 \pm 1.12) \mu\text{m}$,核质比约 0.63 ± 0.09 ($n = 10$) (图版 I:9)。成血细胞的直径 $4 \sim 8 \mu\text{m}$,核大而圆,核质比是 4 种细胞中最大的。

2.5 中国蛤蜊血细胞 TFT 染色后的观察结果 中国蛤蜊血涂片经 0.1% 的 TFT 湿染色后荧光显微镜下观察也包含上述 4 种类型血细胞。其颗粒细胞直径 $7 \sim 12 \mu\text{m}$,平均核质比为 0.49 ± 0.09 ($n = 10$),大颗粒细胞数目较小颗粒细胞少,大颗粒平均直径为 $(1.05 \pm 0.08) \mu\text{m}$ ($n = 10$)。透明细胞直径 $8 \sim 12 \mu\text{m}$,其核直径为 $3.6 \sim 4.4 \mu\text{m}$ 。成血细胞平均直径仅 $(4.09 \pm 0.48) \mu\text{m}$ ($n = 10$)。中国蛤蜊血涂片空气干燥后经 0.1% 的 TFT 染色在荧光显微镜下的观察结果见图版 I:10~12。干染的中国蛤蜊各类型血细胞呈现的荧光色与湿染相同。血涂片干燥后可以见到许多血细胞伸出其伪足粘附在载玻片上,细胞轮廓、核及颗粒也均清晰可见。观

察不同类型细胞伪足形成的情况可以看出,中国蛤蜊的颗粒细胞最易形成伪足,且伪足很长,伸出伪足后细胞的最大直径可达 $68 \mu\text{m}$,透明细胞也易伸出伪足,但伪足较短,而成血细胞不易形成伪足。

3 讨 论

3.1 贝类血细胞 TFT 荧光染色 Darghal 等^[11]在 TFT 不能进入血脑屏障机制的研究中表明,TFT 能够穿过细胞膜并且渗入到细胞内部。Khurana 等在研究淀粉样蛋白与 TFT 结合后荧光增强的机理中发现,TFT 在水溶液中可形成直径 3 nm 的微团,TFT 以微团的形式沿着蛋白纤维的长轴结合在纤维的表面而使其荧光增强;淀粉样蛋白包括 A- β 肽、溶菌酶、胰岛素和免疫球蛋白等都可与 TFT 结合而显著增强其荧光强度^[12]。还有实验证实,TFT 可与结缔组织中的软骨、弹力纤维和黏多糖结合^[13-14],TFT 也可与 DNA 和 RNA 结合而增强其荧光^[5,15]。上述研究结果有助于对贝类血细胞 TFT 荧光染色机理的解释。TFT 染液中的 TFT 渗透进入贝类血细胞的内部,与核中的 DNA 和 RNA 结合而发出强的黄色、绿色或黄绿色荧光。贝类血细胞酶细胞化学研究结果显示,酸性磷酸酶可定位于细胞中的某些颗粒上^[16-17],因此贝类血细胞中的某些颗粒可能为溶酶体,溶酶体中的溶菌酶与 TFT 结合可能是使其颗粒呈现强荧光的原因之一。

韩建德等^[18]对皮肤淀粉样变组织切片后采用 0.1% 的 TFT 染色,荧光镜下显示淀粉样物质沉淀呈亮绿色,此荧光颜色与本实验血细胞的显色结果较相近。许屏等^[8-10]采用 TFT 染色法显示人 (*Homo sapiens*) 周围血液中的淋巴细胞及兔 (*Oryctolagus cuniculus*) 淋巴结内的淋巴细胞、巨噬细胞,可观察到橘红色、黄色、蓝绿色及蓝色等多种荧光色的细胞。在 4 种贝类中均未观察到呈蓝色的细胞,也未见橘红色核的细胞,但有的血细胞颗粒呈橘红色,推测其差异的原因除了染色及观察条件有所不同外,主要还是血细胞类型不同所致。

3.2 几种贝类血细胞 TFT 染色结果比较 软体动物门中双壳纲、腹足纲和头足纲 3 大主要类群的 4 种贝血细胞经 0.1% 的 TFT 荧光染色后,均显示出清晰的细胞轮廓,核、颗粒与胞质的区分明显,不同物种各血细胞类群荧光的颜色相同或相近,荧光稳定性高、不易淬灭。TFT 荧光染色后,因胞质中的颗粒极易被识别,因此可以很容易区分各血细胞类群,采用瑞氏和吉姆萨染色等方法虽可识别不同类型的颗粒,但常因染色中 pH 条件不一致、染料的吸附等因素而造成识别上的困难。4 种贝类的血细胞经 0.1% 的 TFT 染色后的分类结果基本相同,但拟紫口玉螺的血细胞成分更复杂些,关于其分类标准及亚型的识别还有待于进一步的研究。

韩建德等在皮肤淀粉样变 TFT 染色中的研究发现,TFT 作为组织学荧光染料的优点包括操作简便、着色均匀、标本保存时间较长,封固的切片室温下保存 1 个月荧光强度未见明显减退^[18]。本研究采用液体石蜡封闭样品的方法可以保持标本材料长时间不干燥、不变形,涂片后 48 h 内均可观察和拍照,且荧光无减弱现象。干燥后的血涂片也有很好的 TFT 染色效果,且有助于不同类型细胞形成伪足及变形运动的比较观察。本研究首次尝试将 TFT 用于贝类血细胞的形态观察及类型区分的研究,初步的实验结果表明,TFT 荧光染色是贝类血细胞观察与分类的一种好方法。

参 考 文 献

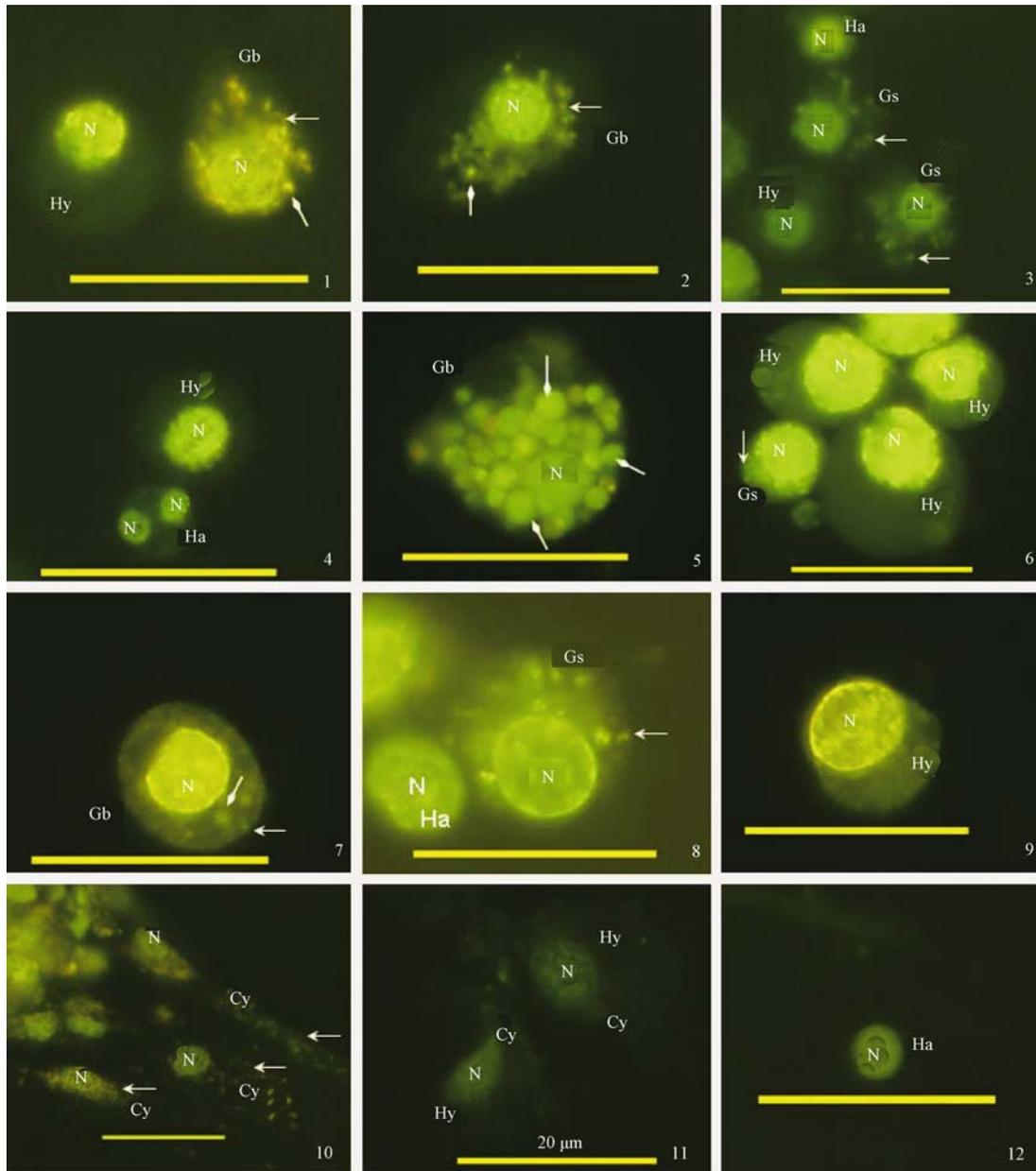
- [1] Chang S J, Tseng S M, Chou H Y. Morphological characterization via light and electron microscopy of the hemocytes of two cultured bivalves: a comparison study between the Hard Clam (*Meretrix lusoria*) and Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*). *Zoological Studies*, 2005, 44 (1): 144 - 152.
- [2] Wootton E C, Pipe R K. Structural and functional characterisation of the blood cells of the bivalve mollusc, *Scrobicularia plana*. *Fish and Shellfish Immunology*, 2003, 15(3): 249 - 262.
- [3] Cima F, Matozzo V, Marin M G, et al. Haemocytes of the clam *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850): morphofunctional characterisation. *Fish and Shellfish Immunology*, 2000, 10(8): 677 - 693.
- [4] Ottaviani E. Molluscan immunorecognition. *ISJ*, 2006, 3: 50 - 63.
- [5] Ilanchelian M, Ramaraj R. Emission of thioflavin T and its control in the presence of DNA. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2004, 162(1): 129 - 137.
- [6] 李斌, 张万鹏, 韩建德. 硫代黄素 T 在皮肤淀粉样变染色的初步应用. *岭南皮肤性病科杂志*, 2005, 12 (4): 304 - 305.
- [7] Krebs M R H, Bromley E H C, Donald A M. The binding of thioflavin-T to amyloid fibrils: localization and implications. *Journal of Structural Biology*, 2005, 149 (1): 30 - 37.
- [8] 许屏, 高玉民, 李淑莲, 等. 硫代黄素荧光染色法显示周围血液中的淋巴细胞异质性. *解剖学报*, 1982, 13 (3): 328 - 334.
- [9] 许屏, 高玉民, 李淑莲, 等. 异质性荧光染色的巨噬细胞形态和功能研究. *中国科学: B 辑*, 1985, (1): 31 - 37.
- [10] 许屏, 李淑莲. 淋巴结内淋巴细胞异质性荧光染色观察. *白求恩医科大学学报*, 1981, 7(3): 1 - 6.
- [11] Darghal N, Garnier-Suillerot A, Salerno M. Mechanism of thioflavin T accumulation inside cells overexpressing P-glycoprotein or multidrug resistance-associated protein: role of lipophilicity and positive charge. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006, 343 (2): 623 - 629.
- [12] Khurana R, Coleman C, Ionescu-Zanetti C, et al. Mechanism of thioflavin T binding to amyloid fibrils. *Journal of Structural Biology*, 2005, 151(3): 229 - 238.
- [13] Vassar P S, Culling C F A. Fluorescent stains, with special reference to amyloid and connective tissues. *Arch Pathol*, 1959, 68: 487 - 494.
- [14] Keliényi G. On the histochemistry of azo group-free thiazole dyes. *J Histochem Cytochem*, 1967, 15(3): 172 - 180.
- [15] Cañete M, Villanueva A, Juarranz A, et al. A study of interaction of thioflavine T with DNA: evidence for intercalation. *Cell Mol Biol*, 1987, 33(2): 191 - 199.
- [16] 孙虎山, 李光友. 栉孔扇贝血淋巴中 ACP 和 AKP 活性及其电镜细胞化学研究. *中国水产科学*, 1999, 6(4): 6 - 9.
- [17] Cajarville M P, Pal S G, Robledo Y. Light and electron microscopical localization of lysosomal acid hydrolases in bivalve haemocytes by enzyme cytochemistry. *Acta Histochem Cytochem*, 1995, 28(5): 409 - 416.
- [18] 韩建德, 张万鹏, 李斌. 硫代黄素 T、甲醇刚果红及甲基紫在皮肤淀粉样变染色中的比较. *诊断病理学杂志*, 2004, 11(5): 362 - 363.

王宜艳等:贝类血细胞硫代黄素 T 荧光染色方法

图版 I

WANG Yi-Yan *et al.*: The Fluorescence Staining Method of Mollusks Haemocytes with Thioflavin T

Plate I



1~4. 栉孔扇贝血细胞; 5~6. 拟紫口玉螺血细胞; 7~9. 短蛸血细胞; 10~12. 中国蛤蜊血细胞。标尺 = 20 μm
 1-4. Hemocytes of *Chlamys farreri*; 5-6. Hemocytes of *Natica janthostomoides*; 7-9. Hemocytes of *Octopus variabilis*; 10-12. Hemocytes of *Maetra chinensis*. Bar = 20 μm

▷示大颗粒; →示小颗粒; N. 细胞核; Gb. 大颗粒细胞; Gs. 小颗粒细胞; Ha. 成血细胞; Hy. 透明细胞; Cy. 伪足。
 ▷Large granules; →Small granules; N. Nucleus; Gb. Big granulocytes; Gs. Small granulocytes; Ha. Haemoblasts; Hy. Hyalinocytes; Cy. Pseudopodium.