

論文提要

焦性磷酸酶的組織化学显示法

Yoriaki Kurata Shoji Maeda
(Stain technology 31: 13—16, 1956)

甲) 硷性焦性磷酸酶 (alkaline pyrophosphase) 的顯示法:

- 1) 新鮮組織片固定于冷的 5% 中性福尔馬林液中(此液含有 0.9% 氯化鈉) 1 小时。
- 2) 以 0.9% 氯化鈉洗 10—20 分钟。
- 3) 冰冻切片 (20—35 微米), 切片径入 0.9% 氯化鈉中或酶作用基液中 (Substrate solution)。
- 4) 切片入酶作用基液內, 在 37°C 下作用 3 小时, 基液之配法为——

a) 焦性磷酸鈉 (Sod. pyrophosphate, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 1.088 克, 溶于 20 毫升蒸餾水內。

b) 三氯化鉄 (ferric chloride) 0.61 克溶于 10 毫升蒸餾水中。

c) 将 (b) 液加入 (a) 液, 振動, 有白色沉淀生成。

d) 以浓碳酸鈉水溶液 (Sod. carbonate, Na_2CO_3) (± 10%) 一滴一滴加入, 直至沉淀溶解为止。

e) 将混合液之 pH 以 ± 1N 的盐酸調整至 7.2—7.3, 加蒸餾水至 100 毫升。

f) 加 0.9 克的氯化鈉。

g) 此液应新鮮, 临用前滴加 10% 硝酸鎂 (Mag. nitrate), 或 10% 氯化鎂 (Mag. chloride) 約 1 毫升。此时溶液稍为混浊。

5) 切片以 0.9% 氯化鈉洗 2 次, 每次 10—15 分钟, 然后切片貼于載玻片, 凉干。

6) 入含有数滴硷性硫化銨液 (Acidic ammonium sulfide Solu.) (見譯者注) 的 0.9% 氯化鈉溶液內作用 2—3 分钟, 此时組織染为深或淡綠色。

7) 迅速脫水, 在石碳酸二甲苯內透明, 树脂封藏(或不脫水以甘油封)。

結果: 硷性焦性磷酸酶的部位染为不同程度的綠色。

(乙) 酸性焦性磷酸酶的顯示法:

和显示硷性者的原則相同, 其操作不同处仅在于: 焦性磷酸鉄之白色沉淀产生后用离心机集中, 去掉土清, 加少量蒸餾水, 再滴浓碳酸鈉使之溶解。滴加稀盐酸将 pH 調整至 4.7—6.0, 然后加蒸餾水至 100 毫升, 置于室溫中 2—3 小时, 再加 100 毫升 pH 3.5 的 0.5 M 醋酸盐緩冲液 (Acetate buffer), 使

混合液之 pH 再調整至 3.7—4.0, 不加鎂盐。且整个程序不用氯化鈉溶液。

切片在酶作用基液中于 37°C 下作用 1 小时, 其他程序与硷性者同, 結果: 酸性焦性磷酸酶部位染为不同程度的綠色。

[譯者注]: 硷性硫化銨液参看: Maccalum, A. B.: 1932, Romeis's Taschenbuch der mikroskopische Technik. 13. Aufe. P. 343, R. Oldenbourg, München und Berlin.

(艾民康摘譯)

神經組織的氨基-銀液染色

James O. Brown J. P. M. Vogelaar
(Stain technology 31: 159—165, 1956)

1) 神經組織以 95% 乙醇或 10% 甲醛 (普通甲醛, 甲醛盐液, 中性甲醛) 固定; 石蜡切片。

2) 取氨基銀液 150—200 毫升于染色皿內。

配法: 0.035M 的甘氨酸 (glycine) 或 dl-蛋氨酸 (dl-methionine) 或 dl-α-氨基-正-酪酸 (dl-α-amino-n-butyrac acid) 或 dl-組氨酸 (dl-histidine) (硷性基游离) 或 dl-α-丙氨酸 (dl-α-alanine) 的溶液与 0.02M 硝酸銀溶液等量混合, 并以 0.1M 氫氧化鈉 (NaOH) 調整其 pH 至 8.0—8.5。

或合併上述氨基酸 (再与銀液混合) 亦可, 如甘氨酸与丙氨酸; 氨基-正-酪酸与丙氨酸; 甘氨酸与氨基-正-酪酸; 或氨基-正-酪酸与組氨酸合併应用。

氨基銀液可置于室溫, 不需特殊避光。

3) 放入皿內 3—4 条銅片 (約 1×6.5 厘米) (仅于浸染前才放入), 并平鋪于皿底。

4) 已脫蜡及复水的切片 (切片架于玻璃运送器上), 立即放入氨基銀液內于 37°C, 48 小时。浸漬液用后不能再用。

5) 其余各步 (还原, 鍍金, 草酸及硫代硫酸鈉) 和 Bodian 氏法 (Anat. Rec. 65: 89—97, 1936) 蛋白銀浸后所需之諸操作方法一样。

所有玻璃器皿必須充分洁淨; 应用之蒸餾水最好是玻璃器蒸餾者。及氨基酸 (如甘氨酸) 貯液应高压蒸气灭菌, 取用后再行灭菌。

結果: 不論应用那一种氨基酸皆可得到极好的浸漬; 含有两种氨基酸的浸液結果亦佳。本法可能于某些地方較 Bodian 氏蛋白銀 (Protargol) 者为优。氨基銀液似乎对周围神經的細纖維具有亲和力。

(艾民康摘譯)