

茜素红活体染色制作鸡胚透明骨骼标本

丁时崇 李文玉

(辽宁大学生物系)

在筛选致畸胎药物试验中,骨骼是重点的检查项目之一。过去制作透明鸡胚骨骼标本的传统方法是:先将鸡胚浸在茜素红染液中染色24小时,再用透明液使着色的软组织退色24小时,经脱水透明24小时后,置于纯甘油中保存,整个制作过程至少需3天时间。

为对大批实验材料同时作处理,这种整胚染色法的操作不仅麻烦,费时间和药品,而且对幼龄胚的骨化中心标本制作,更显有不足之处。染色后,再用透明液进行退色时,若时间短,软组织的颜色退不净;若时间长,因染液与透明液均含KOH,常常会造成软组织一定程度上的解离,给标本检查带来不便。同时,由于多次更换溶液,标本形体往往难以保持正常。针对这些缺点,我们尝试采用活体染色的方法,让茜素红染液通过绒毛尿囊膜上的丰富血管进入骨基质,使骨着色,而软组织无色,省去了退色步骤。经反复摸索,取得了很好效果。自从蛋中取出鸡胚至制成透明的骨骼染色标本,整个操作过程,大胚只需2—3小时,幼龄胚半小时左右足矣。现将具体制作步骤介绍如下:

(一) 选用孵育10—12天的蛋,借灯光照射确定气室与绒毛尿囊膜发育面的位置,用碘酒消毒蛋壳外部的相应部位,经70%乙醇脱碘后,用消毒过的钢针在上述两处各锥一小孔。然后,用滴管的胶皮帽紧贴于气室端的小孔上,向外吸气1—2次,使绒毛尿囊膜下陷,与卵壳分离,于胚上方出现一人工气室。再次在灯光上照射核实。

(二) 用注射器沿小孔注入2%的茜素红生理盐水溶液0.2毫升。注染液时,针头插入宜浅,染液恰注在绒毛尿囊膜表面,切忌注入尿囊腔内。注毕,取出针,立即用石蜡封闭小孔。将蛋放回孵化器里的托架上,小孔朝上,于39℃继续孵育,12小时后再行翻蛋。若对8—9天左右的幼龄胚进行染色,只需提前12小时注入染液即可。染液浓度1%,用量0.1毫升为宜。

(三) 孵至19天,将胚取出,去皮毛及内脏后,直接放入2%的KOH与纯甘油的等体积混合液中2—3小时,至组织透明即可对骨骼进行检查,必要时置于纯甘油中保存。