

# 动物组织徒手切片技术

姚 显 声

(辽宁师范大学生物系)

**摘要** 本文说明一种新的动物切片法,通过十个基本步骤实现的徒手切片法,其特点是用一种高分子聚合物作材料包埋剂制成包埋块,用剃刀切成薄膜状切片。不用大型贵重仪器,优于石蜡切片法。是动物组织光学显微镜切片技术的革新。

由于动物组织大多都很柔软,通常使用石蜡切片法制片。因而必须有恒温箱和切片机等贵重仪器,因此,在农村或某些条件简陋的实验

室,则难以进行石蜡切片,由于不能制片,使教学或科学研究工作,受到影响。然而,经实验研究证明,不用石蜡切片法,只要采用聚合物包埋

动物材料,进行徒手切片,也能在条件较差的实验室中,制出较薄的切片。应用这种徒手切片法,可以切出相当于石蜡切片法的蜡片厚度的塑料膜质薄片。这种膜片是透明的,可直接封存于玻片之中,节省许多操作步骤和药品。

其包埋剂是甲基丙烯酸丁酯 (Butyl methacrylate),能够发生聚合反应,可由液态的单体经过胶态的浆液,进而聚合成固态的聚合体。利用这一变化过程进行制片,体现了高分子化学与生物制片学的巧妙的结合。其制作方法如下。

### (一) 实验用品

1. 药品 包埋剂 甲基丙烯酸丁酯(BMA);增塑剂 邻苯二甲酸二丁酯 (DBP);引发剂 偶氮二异丁腈 (ABN);粘合剂 聚乙烯醇 (PVA);氧化剂 过氧化苯甲酰 (BPO);还原剂 二甲基苯胺;卡诺氏固定液 纯酒精和冰醋酸按 3:1 比例混合配制;染色剂 亚甲蓝和碱性品红;其他还有酒精、醋酸、二甲苯、二氧六环等。

2. 工具 解剖用具、称量用具、水浴、三角瓶等。

### (二) 制片步骤 以白鼠精巢制片为例

#### 1. 标本处理

(1) 取材 取白鼠投入瓶中,用乙醚麻醉。再解剖取其精巢。在精巢两端针刺小孔,利于药液进入。

(2) 固定 材料移入有卡诺氏固定液的瓶中,浸渍 6 小时后。用纯酒精洗涤 3 小时。

(3) 透明 材料先移入纯酒精与二氧六环按 1:1 比例的混合溶液中,浸 3 小时。再移入二氧六环溶液中,浸 3 小时,备用。

2. 制作模具 其模具为盛装用的玻璃盒具、用载玻片糊制六个面的小盒,方法是:取载玻片,用聚乙烯醇胶 (10% PVA 水剂)涂在玻璃纸条上,用以粘贴载片接缝、制成玻璃盒。留有上盖,以备装物。

3. 制 BMA 胶 为包埋材料用的包埋胶。

配方: BMA 100 毫升、DBP 20 毫升、ABN 0.1 克。

把上述药品装入三角瓶中,三角瓶放在水浴器中加热,水温 80℃ 左右、熬制 30 分钟左右,使 BMA 由液体逐渐变成胶状体。冷却备用。

上述三项工作完成后才能进行下一项工作。

4. 包埋透胶 材料埋入 BMA 胶中,使胶液渗入材料之中。把精巢由二氧六环中取出,切成两瓣便于透胶,放入模具中,倒上 BMA 胶液包埋材料,透胶 24 小时。

5. 聚合固化 BMA 胶液进一步聚合成为固体为固化。为此要在胶液中加入两种药品: BPO 2 克、二甲基苯胺 1 毫升,搅拌混合,发生氧化还原反应,促进聚合固化,加药后封上盒盖,放置 1—3 小时则固化成包埋块。

6. 启模 为取出 BMA 包埋块、先撕去玻璃盒上的玻璃纸条,掰开六块玻璃片,露出 BMA 包埋精巢的透明塑料包埋块。

7. 切片 一手持剃刀,一手拿包埋块,细心切削,切下的是一片很薄的 (10 微米左右)透明的塑料膜状切片,称为膜片。

#### 8. 染色

(1) 贴片 把切下的膜片粘贴在载片上便于操作,载片上涂点 PVA 胶,放上膜片,覆盖吸水纸轻压,使膜片贴紧和吸去多余的胶液。

(2) 助染 于载片的膜片上,滴上 5% 醋酸酒精 (95) 溶液,2 分钟后用 95 酒精洗去。

(3) 初染 膜片上滴染 1% 亚甲蓝酒精 (95) 染剂,20 分钟后用 95 酒精洗去浮色。

(4) 复染 膜片上滴染 1% 碱性品红酒精 (95) 染剂,5 分钟后用 95 酒精洗去浮色。

(5) 镜检 显微观察可见细胞质为红色,细胞核及精细小管为蓝色或紫色。

9. 脱水 载片浸入纯酒精中 5 分钟之后,覆盖吸水纸吸去酒精溶液。

10. 透明、封片 在膜片上加一滴二甲苯,滴上一滴 BMA 胶液,盖上盖片,贴上标签。

以上为徒手切片方法。也可用切片机制片,用机制法更容易控制膜片切削厚度。但是机制法要求 BMA 包埋块要硬一些,因此,在

制胶配方中少加 DBP 数量。多加则使包埋块软化。DBP 是调节包埋块软硬的药品。

本切片技术是根据高分子化学理论、结合制片技术进行实验而成。

### 参 考 文 献

【1】俞仰青 1982 生物宏观标本制作 241—244, 上海教

育出版社。

【2】珊瑚化工厂 1979 有机玻璃 195—334, 上海科学技术出版社。

【3】潘祖仁等 1984 高分子化学 31—38, 112, 化学工业出版社。