

冰冻切片法制作家兔眼球切片

常凤滨

(山西晋中师专生化系 榆次市 030600)

摘要 用 Szent-Gyorgyi 液固定,明胶包埋,冰冻切片法制作家兔眼球切片,获得了完整眼球壁的理想切片,其中睫状体、睫状突和睫状小带的形态结构更为理想。

关键词 眼球 冰冻切片法

眼球壁是眼球的重要结构,为保证眼球壁的结构完整,必须保持眼球不变形。作者于 1995 年 1-12 月,采用 Szent-Gyorgyi 液固定,避免眼球组织收缩,用明胶包埋,可保持眼球形状,用冰冻切片法,可免去脱水等过程,获得了完整的眼球壁切片^[1-2]。

1 取材、固定和包埋 取山西榆次本地家兔(Hare)14 只,用氨基甲酸乙酯从耳缘静脉注射麻醉后,立即用弯剪子取出眼球,速将周围脂肪剔除,用线扎住眼外肌和视神经,冲洗干净,将眼球悬挂于盛有 Szent-Gyorgyi 液的广口瓶内,使固定液充分渗透,5d 后取出眼球再放入新鲜的 Szent-Gyorgyi 液 100ml 加丙酮 50ml 液中固定。4d 后取出眼球用自来水冲洗 24h,再用蒸馏水冲洗。经充分水洗后浸入 12% 明胶溶液(以 1% 石炭酸水溶液配制)置 37℃ 温箱内浸 24h,移至 25% 明胶液再浸 24h。用新鲜的 25% 明胶溶液包埋,连同包埋器放入冰箱内使明胶迅速凝固,取出后在空气中蒸发 10min,入 10% 甲醛溶液固定明胶 2d。

2 用冰冻切片机切片 将明胶包埋块用蒸馏水洗短时,将眼球周围的明胶去掉,再用蒸馏水冲洗,将眼球水平方向置于冷冻台上,周围滴加蒸馏水,待冷冻后切片,切片保存于 10% 甲醛溶液中。

3 染色与封固 眼球壁切片极易破碎,采用游离染色法,全部过程在培养皿中进行,每次换溶液时倾倒培养皿,避免多次换液移动切片,以保持切片完好。采用 H·E 染色,切片自蒸馏水中取出后先用苏木精染色 10min,再用 0.5% 盐酸

的 70% 酒精溶液分色。分色后充分水洗后再入 0.5% 伊红染色 30s。充分水洗后使细胞核呈兰色,细胞质呈桃红色,眼球壁外膜较内膜的细胞质染色深,中膜非色素细胞的细胞质染色较浅。染色后小心将切片贴于载玻片上展平,用 Kaiker 法及化学树胶两种方法封片,效果均较理想。

4 小 结

4.1 两次固定对保持眼球形状极为重要。事实证明,先经 Szent-Gyorgyi 液固定,再加丙酮二次固定所得到的眼球不收缩,角膜也保持原有的形状。

4.2 眼球属易破碎组织,用明胶处理后可有效防止眼球破碎。

4.3 用冰冻切片法切片免去了脱水等一系列过程,又一次避免了眼球因多次脱水而破碎。

4.4 为避免明胶包埋后,粘在眼球周围的明胶再处理时切片破碎,先除去包埋的明胶块,再放冷冻台上加蒸馏水切片,可获得理想的切片。

4.5 经上述制片的眼球切片上可获得理想的睫状突和睫状小带切片。对显示视网膜和视神经盘的微细结构也优于其它切片。

参 考 文 献

- 1 杜卓民.实用组织学技术.北京:人民卫生出版社,1982. 243-244.
- 2 黄承芬,杜桂森.生物显微切片技术.北京:北京科学技术出版社,1991. 206-208.