

寄生线虫染色体的常规制片技术

黄跃进 何麟

(第一军医大学寄生虫学教研室, 广州)

寄生线虫中有相当一部分能引起严重的寄生虫病, 对人畜健康危害较大。从遗传学角度研究寄生线虫, 对防治寄生虫病有积极意义。目前国内尚未见有关寄生线虫染色体常规方法的报道。作者参照吴政安^[1]、寺崎邦生等^[3]和 Sakaguchi 等^[5]提出的方法, 根据本实验室具体条件, 结合短期培养及空气干燥技术制片, 获得了较好的效果, 现简介如下。

材料和方法

一、取材 将从人或其他动物体内取得的线虫冲洗干净后, 即放入 0.85% NaCl 溶液中带回实验室备用。

二、实验程序

1. 将新鲜虫体在相对无菌条件下解剖, 分别取出雌、雄生殖腺(雌虫弃去子宫), 用眼科剪将其剪成碎片;

2. 分离出的虫体生殖腺立即放入含 199 培养液、0.01% 秋水仙素和 20% 小牛血清的培养瓶中, 置 37℃ 温箱培养 4—5 小时;

3. 将标本连同培养液一起倾入离心管中, 以 1,000 转/分的速度离心 10 分钟, 弃上清后加入预温的 0.075 mol/L KCl 溶液 37℃ 水浴低渗处理 60 分钟;

4. 仍以 1,000 转/分离心 10 分钟, 弃去上清液, 加入新鲜配制的甲醇-冰醋酸 (3:1) 液室温下固定 30 分钟, 共固定两次;

5. 离心弃上清后标本加入 60% 醋酸并用吸管将标本来回抽吸以打匀细胞, 然后室温静置 10 分钟;

6. 1,000 转/分离心 10 分钟, 吸去上清液,

复加入几滴新鲜配制的固定液, 于一定高度滴在预先致冷的玻片上, 空气干燥后, 用 10% Giemsa 液 (pH 6.8) 染色 25—30 分钟, 镜检。

结果与讨论

采用上述方法所制得的鸡蛔虫 (*Ascaridia galli*) 染色体标本及人蛔虫 (*Ascaris lumbricoides*)、猪蛔虫 (*Ascaris suum*)、犬弓首线虫 (*Toxocara canis*) 等染色体的研究, 获得较好效果。

自从 Rothfels 等^[4]提出采用空气干燥技术研究哺乳动物染色体以来, 这项技术在各类动、植物染色体研究中得到广泛应用, 在寄生虫染色体研究中也是一种较简便、可靠的方法。

经反复实验比较作者认为, 秋水仙素用量以 15—20 μg/ml 培养液为宜。若剂量过小, 则分裂指数较低, 甚至几个低倍视野都难觅一个分裂相; 但若剂量过大时, 细胞分裂相亦会减少, 且染色体变得短粗、模糊不清, 难于计数。

用 0.075 M 氯化钾和 1% 柠檬酸钠这两种低渗液进行低渗处理均可。但低渗处理时间长以 0.075 M 氯化钾 37℃ 水浴 60 分钟较宜。另外, 猪蛔虫、人蛔虫等的雄虫生殖腺滴片后可见一些团状物妨碍着染色体观察, 可采用田中敬一等^[2]提出的 McIvaine 氏液 (pH 5.6) 的 10 倍稀释液在固定前处理标本一段时间, 去除这些细粒状物, 有利于观察染色体。固定液一般采用甲醇-冰醋酸 (3:1) 液, 固定时间一般采用两次, 每次 30 分钟左右。也可固定过夜。

要指出的是, 玻片干净与否直接影响实验成败。若玻片沾有油脂, 会造成滴片时分散不

匀、染色后难于观察。应将煮洗过的新玻片泡清洁液后冲洗干净,再放入含双蒸水的烧杯中,置 4°C 冰箱预冷,操作时最好用无油脂的金属器械钳夹。另外,滴片时应相距一定高度,可有助于染色体分散。

参 考 文 献

[1] 吴政安 1982 两栖类骨髓细胞的染色体标本制作法。

遗传 4(1): 38—39。

- [2] 田中敬一等 1984 图解扫描电子显微镜 (李文镇等译)。科学出版社: 199。
- [3] 寺崎邦生等 1978 吸虫类における染色体标本作成の简易法。Bull Azabu Vet Coll 3(2):273-278。
- [4] Rothfels, K. H. et al:1958. An air-drying technique for flattening chromosomes in mammalian cells grown *in vitro*. Stain Technol 33:73—77。
- [5] Sakaguchi, Y. et al:1980. The chromosomes and gametogenesis of *Dirofilaria immitis*. Jpn J Parasit 29(5):377—381。