

# 以偶氮偶联 (azo-coupling) 及粘蛋白染色的对比

## 作脑垂体前叶諸型細胞的組織化学鑑別

Landing B. H. Hall H. E.

Stain technology 31: 193—196, 1956

根据 Pearse 氏偶联四氮盐反应 (coupled tetrazonium) 染脑下垂体, 其嗜酸嗜硷两种細胞皆可染色, 仅前者着色較深, 故不宜于組織学鑑別之用。作者鑑于嗜硷細胞的向性腺及向甲状腺激素皆系粘蛋白(mucoprotein), 故染粘蛋白的高碘酸白复紅法 (periodic acid-leukofuchsin) 可作为重氮蓝 B (diazoblue B) 或重氮蓝 B 和 H 酸 (H acid) 联用的对比染色。作者也鑑于用重氮蓝 B 可加强嗜酸性細胞对于某些染料的亲和力 (如固綠 FCF) 而描述了应用固綠 FCF (fastgreen FCF) 的偶氮偶联染色法。

氮化合物 (azo-compound) 可与人垂体前叶嗜酸性或嗜硷性細胞浆蛋白質的芳香氨基酸核 (aromatic amino acid nuclei) 联合。对嗜酸性細胞其反应主要系由于酪氨酸 (tyrosine), 但亦有一部系由于組氨酸 (histidine)。本法应用那佛散尼尔重氮蓝 B 显示嗜酸性細胞 (第二联合剂—H 酸用不用均可), 并以粘蛋白染色 (高碘酸氧化, 伴以白复紅或白硫堇染) 对比显示嗜硷性細胞浆。Evan 氏蓝亦可用于嗜硷性細胞的对比染色。

其染程序为:

甲、偶联四氮盐-白硫堇法 (coupled tetrazonium-leuko thionin)。

(1) 石蜡切片, 脱蜡, 至水。以 pH 9.2 之醋酸佛罗那 (veronal-acetate) 緩冲液洗;

(2) 入那佛散尼尔重氮蓝 B 液 (naphthanyl diazoblue B) 中于 0°C, 15 分钟 (見注);

此液配法: 那佛散尼尔重氮蓝 B 50 毫克加入 pH 9.2 之醋酸佛罗那緩冲液 50 毫升內;

(3) 以緩冲液洗;

(4) 以 H 酸 (H acid) 液处理 15—30 秒种。配法: H 酸 (見注) 2 克 pH 9.2 醋酸佛罗那 100 毫升;

(5) 流水洗 2 分钟;

(6) 于室溫以高碘酸氧化 10 分钟。配法: 高碘酸钠 (sod periodate) 1 克; 硝酸 0.5 毫升; 蒸餾水 100 毫升。

(7) 流水洗 5 分钟;

(8) 以白硫堇液染 2 小时。配法: 硫堇 (thionin) 500 毫克, 加入蒸餾水 250 毫升; 煮沸 5 分钟, 凉至室溫, 加蒸餾水至原量, 再加叔丁醇 (tertiary butyl alc) 250 毫升, 加 1 N 盐酸 75 毫升; 加酸性亚硫酸钠 (sod bisulfite) 5 克。于室溫放置 24 小时, 继于 0°C 置 48 小时, 过滤。

(9) 以常法脱水, 透明, 封藏。

結果: 嗜硷性細胞蓝色; 嗜酸性細胞褐色; 嫌色細胞不染。

乙、那佛散尼尔重氮蓝 B-酸綠-高碘酸白复紅染色法 (naphthanyl-diazoblue B-acid green-periodic acid leukofuchsin)。

(1)、(2) 同甲之 (1)、(2);

(3) 以緩冲液洗, 然后水洗;

(4) 在 3% 固綠 FCF (fast green FCF) 或 3% 淺綠 SF 黄 (light green SF yellowish) 液中染 15 分钟;

(5) 流水洗 2 分钟;

(6) 入 5% 磷鎢酸 (phosphotungstic acid) 水溶液內 3 分钟, 此步可防止以后綠色丧失;

(7) 流水洗 3—5 分钟;

(8) 以高碘酸于室溫下氧化 15 分钟 [配法同甲法 (6)];

(9) 流水洗 5 分钟;

(10) 以白复紅 (leukofuchsin) (酸性亚硫酸之配方) 染 20 分钟;

(11) 流水洗 10 分钟;

(12) 常法脱水, 透明, 封藏。

結果: 嗜硷性細胞深紅色至紅黑色; 嗜酸性細胞亮綠色; 嫌色細胞无色或淡綠色。

(摘譯者注): 那佛散尼尔重氮蓝 B (naphthanyl diazoblue B) 系商业名, 亦可譯为邻联大茴香胺, 其学名系: terazo-tized di-ortho-anisidine, 用它作为第一偶联试剂 (first coupling reagent), 在芳香核 (aromatic nuclei) 的部位可染为黄

褐色；H 酸 (H acid) 学名系 8-amino-1-naphthol-3,6 disulfonic acid, 作为第二偶联试剂和重氮蓝 B 结合可产生紫褐色。可参阅：pearse. A. G. E: Histochemistry, Theore-

tical and applied pp. 56, 414, 415, 416, Little, Broun and co. Boston. 1953。

(艾民康摘译)