

# 于鉻化及碳蜡包埋后染神經終足及綫粒体

Armstrong J. Richardson K. C. Young J. Z.

Stain technology 31: 263—270, 1956

## (一) 固定:

猫、兔以加有 20—40 毫克亚硝酸钠(Sod nitrite)的 0.9% 氯化钠液 50—100 毫升灌注(亚硝酸钠作为血管扩张剂); 继以含 10% 蚁醛之 0.9% 氯化钠液 300—500 毫升灌注; 取其脊髓, 继续以上述 10% 蚁醛液固定, 最少两天; 置 5—10 毫米长的脊髓在室温下入下液浸 5 天。配法: 重铬酸钾 5 克; 氟化铬(chromium fluoride) 2 克; 蒸馏水 100 毫升, 再入 5% 重铬酸钾于 38—40°C 下浸 2—4 星期, 此液应换数次。

## (二) 包埋(見注):

流水冲洗过夜; 入聚乙烯乙二醇(polyethylene glycol) 1000 M. E. (以下简称 PEG) 与等量水的稀释液中 2 小时; 于 37°C 下浸入不稀释的 PEG 两次, 每次分别为半小时、1 小时; 以 PEG 及 Nonex 63 B 等量混合物于 37°C 浸 1 小时; 入 Nonex 63 B 内于 45°C 浸 4 次, 每次分别为半小时、1 小时、1.5 小时及 2 小时; 以 Nonex 63 B 包埋于纸盒中, 放置慢慢使凉。

## (三) 切片, 粘片:

用手搖切片机, 切 5—15 微米; 切片浮于水面, 捞于涂有 4% 明胶(gelatine) 并經干燥的載片上; 以滤紙吸干, 不动滤紙, 并于紙上加酒精蚁醛液(9:1), 再盖第二层滤紙, 輕压切片, 使平展。除去滤紙, 將載片入 100% 酒精; 以 0.5—1.0% 火棉胶涂于切片, 继入 90% 酒精, 并次第下降至水。

## (四) 染色:

### 甲、銀浸法 I (Bielschowsky 改良法):

厚切片(不粘于載片者), 入 5% 氢氧化鉍液于 37°C 下 1 小时; 蒸餾水洗 3—4 次历半小时; 入 10% 硝酸銀于 37°C 半小时, 入 20% 蚁醛液(自来水配) 15 分钟, 待有乳雾色出現即換新液; 入鉍銀液并稍加温, 直至切片变黃棕色为止。配法: 10% 硝酸銀 10 毫升, 加浓氢氧化鉍直至所生之沉淀溶解, 再多加 6 滴鉍液及 1 滴吡啶(pyridine); 切片再入 1% 氢氧化鉍 1 分钟; 入 1% 醋酸; 以加有数滴冰醋酸的 0.2% 氯化金(gold chloride) 調色 3 分钟, 并輕輕加温; 蒸餾水洗; 以 2% 草酸(Oxalic

acid) 还原 3—4 分钟; 5% 硫代硫酸钠( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) 固定 5 分钟; 蒸餾水洗; 脫水, 封藏。

結果: 神經終足(neural end feet) 在神經細胞体及树突的淡背景上呈紫色。

### 乙、銀浸法 II:

(1) 已粘之薄切片以蒸餾水至少洗 1 小时, 并換数次; (2) 于室温暗处置入下液 12—28 小时。配法: 2% 硝酸銀 80 毫升; 100% 酒精 16 毫升; 吡啶 0.5—1.0 毫升; (3) 移入下液浸两次, 每次 30 秒钟。配法: 蚁醛液(非中性) 20 毫升; 2% 吡啶 80 毫升; (4) 以滤紙吸干; (5) 滴鉍銀液于切片上, 約 1 分钟內脊髓灰質开始轉为淡褐色, 鉍銀液配法: 滴加氢氧化鉍于 10% 硝酸銀內, 直至沉淀刚刚消失; 取此貯存液 5 毫升, 再加 20 滴氢氧化鉍作为染液; 染后, 傾去鉍銀液, 入大量 1% 氢氧化鉍液中洗切片 10—20 秒; 流水冲洗, 鏡下可显出核周質及树状突有淡紅褐色边缘; 若浸漬失敗可重复第(3), (4), (5) 諸步数次直至获得合适的色泽, 于有些情况下并可輕輕加热, 以加速其反应; (6) 入 1% 氯化金 10—20 秒, 蒸餾水洗, 以含 0.1% 亚尼林油(aniline oil) 的 50% 酒精洗; (7) 流水洗; 以 5% 硫代硫酸钠固定; (8) 水洗, 脫水, 透明, 封藏。

結果: 神經細胞的綫粒体着色甚佳, 神經終足呈黑色(根据注作者附图說明, 終足呈黑色系其中含有綫粒体之故——摘譯者)。

### 丙、苏木素染色(Weigert-pal 氏法):

(1) 已粘的切片从水中取出, 入 5% 鉬酸鉍(ammomium molybdate) 于 37°C 媒染 30 分钟; (2) 蒸餾水洗; 以 Kultschitzky 氏苏木素于 37°C 染 0.5—1.0 小时; (3) 蒸餾水洗, 重复下列步骤直至滿意的分色: ① 0.25% 过錳酸鉀(P.P.) 10—20 秒, ② 蒸餾水洗, ③ 入 1% 草酸及 1% 亚硫酸鉀(pot sulfite) 等量混合液中, ④ 充分以蒸餾水洗; (4) 流水冲洗, 至少 30 分钟, 脫水, 透明, 封藏。

結果: 神經終足及髓鞘皆被着色。

在全部操作程序中, 神經細胞, 纖維, 包括其細小

末稍的保存較单纯蚁醛固定石蜡切片(再以本法染)者为优。以本法显示之神經終足較大,通常并不呈典型終环(boutons terminaux)的环状结构。于适合的切片,可見終足附着于神經纖維上。

(摘譯者注): 聚乙烯乙二醇(Polyethylene glycol) 1000

M. E. 及 Nonex 63 B 皆系碳腊(carbowax)包埋剂。M. E. 系分子当量(molecular equivalent)之縮写。Nonex 63 B polyethylene 1000 monostearate.

(艾民康摘譯)