

# 一步快速细胞染色法

赵天德<sup>1</sup>, 徐梅<sup>1</sup>, 房青<sup>1</sup>, 徐波<sup>1</sup>, 向青<sup>1</sup>, 唐劲天<sup>2</sup>

1. 中日友好临床医学研究所生物化学-分子生物学研究室, 北京 100029

2. 清华大学工程物理系医学物理与工程研究所, 北京 100084

[摘要] 介绍一种原位显示微载体上细胞形态的快速染色法。染液由甲苯胺蓝及固色剂配成。将 B16 黑色素瘤细胞、Caski 宫颈癌细胞及 BEL-7402 肝癌细胞分别接种于微载体上。取含细胞的微载体悬液及染液各一滴置于载玻片上, 混合均匀, 染色 0.5~2 min, 封盖片, 镜检。染色结果显示: 细胞结构清晰、色彩鲜艳, 而微载体不着色。本染液亦适用于培养的悬浮细胞、脱落细胞及涂片等的快速染色。操作简便、快捷, 易推广。在科学研究、临床检验及工业生产过程中, 对工程细胞的抽样监测等方面有广阔的应用前景。

[关键词] 微载体细胞培养; 快染液

[中图分类号] R331

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2007)01-0035-03

## One Step Rapid Staining Method for Cytology

ZHAO Tiande<sup>1</sup>, XU Mei<sup>1</sup>, FANG Qing<sup>1</sup>, XU Bo<sup>1</sup>, XIANG Qing<sup>1</sup>, TANG Jintian<sup>2</sup>

1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, China-Japan Friendship Institute of Clinical Medical Sciences, Beijing 100029, China

2. Institute of Medical Physics and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract: Morphology of cells seeded on micro-carriers can be observed in situ with the rapid staining method established in our laboratory. The rapid staining solution consists of toluidine blue and color stabilizer. B16 melanoma cells, Caski uterine cervix carcinoma cells and BEL-7402 hepatic carcinoma cells were seeded on micro-carriers separately. One drop of cell-seeded micro-carrier suspension and one drop of the rapid staining solution were placed on the slide, mixed thoroughly, stained 0.5~2 minutes, coverslipped and then examined with light microscope. The results show that the cellular structure can be seen clearly with bright hue, whereas micro-carriers are stainless. This method can be used for rapid staining of cells in cultural suspension, exfoliated cells or smear. The technical procedure is simple and convenient for a wide use in scientific research, clinical examination and monitoring on the samples of engineering cells in industrial production.

Key Words: micro-carriers cell culture; rapid staining solution

CLC Number: R331

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2007)01-0035-03

### 0 引言

欲对自空间返回的长在微载体上的细胞进行后处理, 必须首先了解细胞的生存情况; 了解细胞的生存情况最简捷的办法是借助于染色观察细胞的形态结构, 由太空舱取出细胞之后处理的时间越短越好。这就对染

色方法提出特殊的要求: 染色流程快捷、细胞结构清晰、微载体不着色、技术简便易行、操作安全环保。以往的 Giemsa 染色等方法不能满足上述要求。为此, 本实验室研制出一种新的快速染色方法。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

##### 1.1.1 样品

B16 黑色素瘤细胞(中国科学院上海生命科学院), Caski 宫颈癌细胞(中国医学科学院基础医学研究所细胞中心), BEL-7402 肝癌细胞(中国

收稿日期: 2006-11-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(30371324), 科学技术部 973 计划前期项目[2003(CA04200)]

作者简介: 赵天德, 男, 中日友好临床医学研究所生物化学-分子生物学研究室, 研究员, 主要研究方向为细胞生物学;

E-mail: zhaoctt@126.com

唐劲天(通讯作者), 男, 清华大学工程物理系医学物理与工程研究所, 研究员, 主要研究方向为肿瘤治疗;

E-mail: tangjt@mail.tsinghua.edu.cn

医学科学院基础医学研究所细胞中心)及 Jurkat 淋巴瘤细胞(中国科学院上海生命科学院)。

### 1.1.2 微载体

Cytopore™2 (日本 Amersham Biosciences 公司, 日本生产)。

### 1.1.3 培养液

RPMI 1640 +10%小牛血清(美国 Sigma 公司)。

### 1.2 快染液配方(储存液)

甲苯胺蓝, 固色剂, 蒸馏水, 临用时用蒸馏水稀释 5 倍。

### 1.3 方法

将上述前 3 种细胞 B16, Caski 和 BEL-7402 分别接种于微载体上, Jurkat 细胞悬浮培养, 备用。

取接种细胞的微载体悬液(或细胞悬液)及快染液各 1 滴置载玻片上, 混合均匀, 染色 0.5~2 min (在镜下依细胞着色情况而定), 封盖片, 即可于光镜下观察。

## 2 结果

细胞着鲜明的紫红色, 结构清晰; 凋亡细胞核固缩深染, 坏死细胞多膨大、核溶解或碎裂; 然而藏于微载体深部的细胞影像较模糊, 微载体不着色。如图 1~6 所示。

## 3 讨论与结论

本实验室送至空间的细胞系无源搭载, 即将细胞接种在微载体上, 自空间返回后应及时地对细胞进行后处理, 这就要求快速染色, 以便在原位观察微载体上的细胞形态<sup>[1-2]</sup>。为了达到快速染色的目的, 染色步骤越少越好。本研究采用一步染色法, 即将染液与接种细胞的微载体悬液混合染色, 片刻即封片镜检。因微载体呈悬浮状态, 在样品染色后染液不易移除, 这就要求染液浓度低, 才能使背景近于无色。染液虽进入微载体的孔隙中, 但由于其色度甚淡, 并不影响对细胞结构的观察。染液的特异性强, 仅使细胞着色而微载体不着色。快染液与悬液混合后不产生沉淀。现有的 Giemsa 及

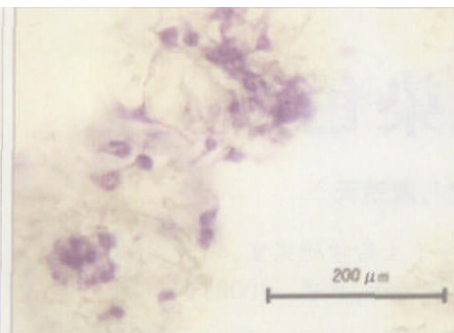


图 1 2 个接种 B16 黑色素瘤细胞的微载体  
(快染液染色, 细胞着紫色, 微载体不着色)  
Fig. 1 Two inoculated B16 cells on micro-carriers, cells are purple, micro-carriers are achromatous

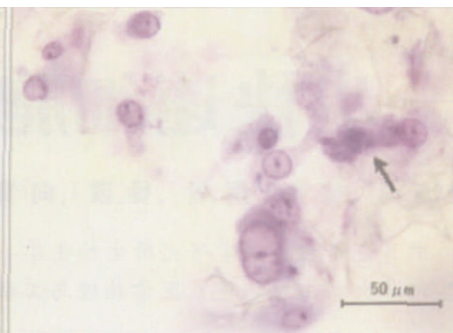


图 2 微载体上的 B16 黑色素瘤细胞  
(快染液染色, 高倍镜观察, 箭头所指为坏死细胞)  
Fig. 2 B16 cells on micro-carriers, the arrow points the necrotic cells

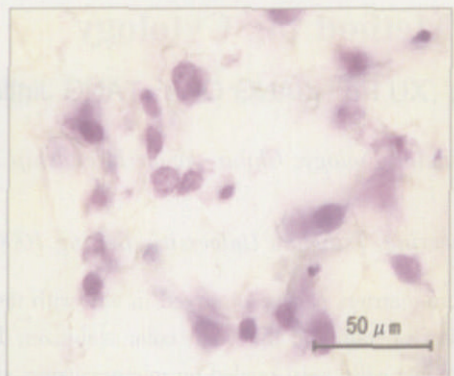


图 3 接种于微载体上的 Caski 宫颈癌细胞  
(快染液染色)  
Fig. 3 Caski cells on micro-carriers

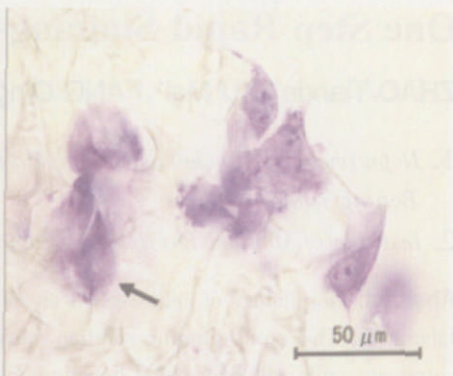


图 4 接种于微载体上的 BEL-7402 肝癌细胞  
(箭头所指为藏于微载体深部的细胞)  
Fig. 4 BEL-7402 cells on micro-carriers, the arrow points the inner cells

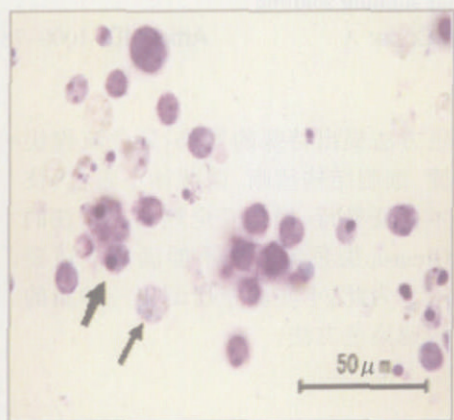


图 5 在培养液不适合的条件下悬浮培养的 Jurkat 淋巴瘤细胞  
(快染液染色, 细箭头所指为坏死细胞, 粗箭头为凋亡细胞)  
Fig. 5 Suspended Jurkat cells, the arrow points the apoptotic cells

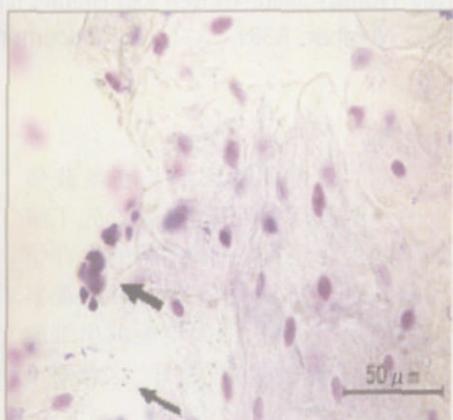


图 6 口腔刮片  
(快染液染色, 大部分为上皮细胞, 细箭头所指为细菌, 粗箭头为白细胞)  
Fig. 6 Epidermal cells, the thin arrow points bacteria and the thick arrow points white cells

Eosin 等染料均能使微载体着色而妨碍细胞形态的显示, 见图 7、8。甲苯胺蓝为常用的细胞染色剂, 并具有异染性<sup>[3-5]</sup>。蓝色的染液可将细胞染成鲜艳的紫红色, 染色步骤及效果可满足上述的特殊要求。甲苯胺蓝为医用药物<sup>[6]</sup>, 对人体安全, 不污染环境; 但由于配制的染液浓度甚低, 与细胞作用时间短暂, 着色牢固度差, 易褪色, 故于配方中添加固色剂以增加色彩的牢固度, 所选用的固色剂亦无毒害作

用。本染液亦适用于培养的悬浮细胞、脱落细胞及涂片等样品的快速染色, 操作简便快捷, 易推广, 可用于科学研究、临床检验及工业生产过程中对工程细胞的抽样监测。

#### 参考文献(References)

- [1] Hu Weishou. Laboratory techniques on microcarrier culture [OL]. [http://hugroup.cems.umn.edu/Cell\\_Technology/cd-rom/Microcarrier%20Tech-](http://hugroup.cems.umn.edu/Cell_Technology/cd-rom/Microcarrier%20Tech-)

nology / Microcarrier% 20Morphology/ Laboratory %20Techniques %20on % 20Microcarrier%20Culture.pdf.

- [2] MAURER B J, IHNAT M A, MORGAN C, et al. Growth of human tumor cells in macroporous microcarriers results in p53- independent, decreased cis-platin sensitivity relative to monolayers[J]. Mol Pharmacol, 1999, 55 (5): 938- 947.
- [3] CHIECO P, PAQNONI M, ROMAQNOLI E, et al. A rapid and simple staining method, using toluidine blue, for analyzing mitotic figures in tissue section[J]. Histochem J, 1993, 25(8): 569- 577.
- [4] JOSEPH S, DAS S, CHAND R, et al. Comparison of toluidine blue vs thionin for mast cells on rat mesentery using carnoy's fixative[J]. J Anat Soc India, 2003, 52 (2): 166- 167.
- [5] 科恩 H J(美). 生物学染色剂[M]. 王文译. 北京: 科学出版社, 1963: 91- 92. Conn H J. Biological Stains [M]. WANG Wen trans. Beijing: Science Press, 1963: 91- 92.
- [6] IMTIAZ ATHER SIDDIQUI M, UMER FAROOQ, RIAZ AHMED SIDDIQUI, et al. Role of toluidine blue in early detection of oral cancer [J]. Pak J Med Sci, 2006, 22(2): 184- 187.

(责任编辑 李慧政)

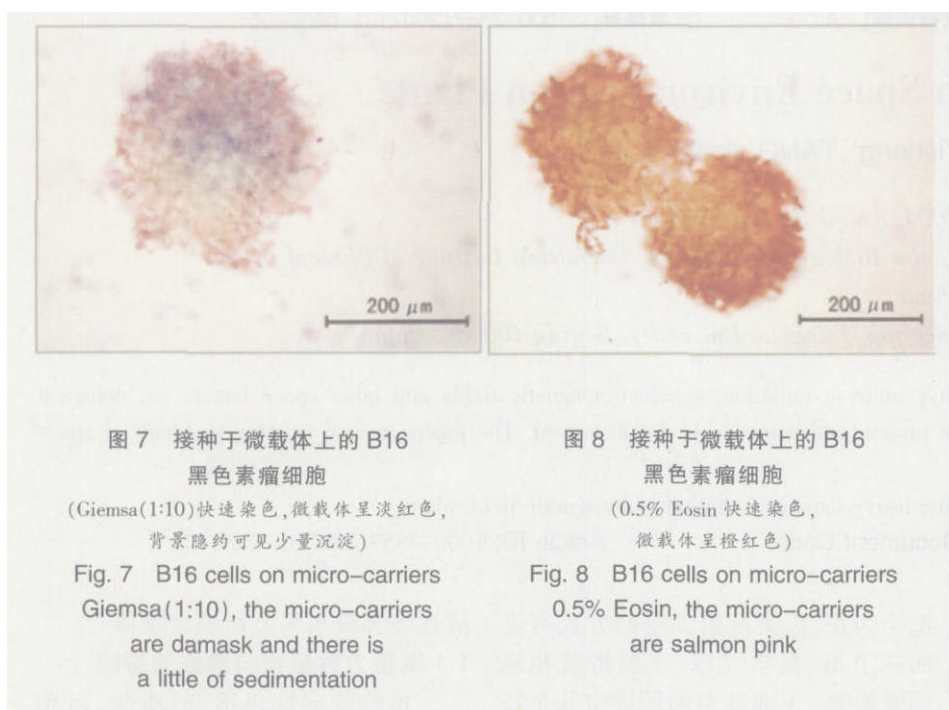


图 7 接种于微载体上的 B16 黑色素瘤细胞

(Giemsa(1:10)快速染色, 微载体呈淡红色, 背景隐约可见少量沉淀)

Fig. 7 B16 cells on micro-carriers Giemsa(1:10), the micro-carriers are damask and there is a little of sedimentation

图 8 接种于微载体上的 B16 黑色素瘤细胞

(0.5% Eosin 快速染色, 微载体呈橙红色)

Fig. 8 B16 cells on micro-carriers 0.5% Eosin, the micro-carriers are salmon pink



## 学术不端行为举报

### 举报一

江苏省淮海大学朱春江、唐德善发表在《生态经济》2006 年第 5 期第 200 页到第 203 页的论文“山东鲁南沿运区域农业发展对策研究——以枣庄为例”, 与该作者发表在《安徽农业科学》2006 年第 2 期第 363 页到第 365 页的论文“山东枣庄市沿运区域农业综合开发研究”内容基本相同。

### 举报二

江苏省淮海大学水资源环境学院周明耀、扬州大学水利科学与工程学院夏继红和江苏省水利厅冯小忠发表在《农业工程学报》2006 年第 4 期第 208 页到第 211 页的论文“基于组件式 GIS 的管道输水灌溉系统规划设计软件研制”, 与江苏省扬州大学水利科学与工程学院周明耀、江苏省水利

厅冯小忠和江苏省无锡锡山区水利农机局孙奎兵发表在《水利与建筑工程学报》2005 年第 4 期第 1 页到第 5 页的论文“基于组件 GIS 的灌溉管网规划设计软件系统”内容基本相同。

(本刊编辑部)