

匀,根管壁表面升温不明显。第三、对与电极探头有一定距离的远隔部位有消毒作用,并且作用不减弱。第四、作用无方向性,对任何角度方向上的有机物均有失活的作用。第五、越是细小的根管(包括牙本质小管)作用越强。第六、对牙周组织有理疗作用,有利于根尖周炎症的吸收。

4 结论

高频电对感染根管的消毒作用无抗菌谱的差异,高频电对感染根管中需氧菌和厌氧菌的消毒作用明显优于氢氧化钙药尖。

参考文献

[1] 吉男匡宏:新しい概念に基づく根管治療の実際(2)[J]. 歯界展望,2001, 97(4):805- 810
[2] 施新猷主编. 现代医学实验动物学. 北京: 人民军医出版社[M], 2000: 520- 521
[3] 红林尚树, 前田伸子: 抜髄後の細菌残存率と細菌残存症例における初診時症状[J]. 歯界展望, 1999, 93(4): 833- 840

[4] 飯塚哲夫. 内療法[J]. 歯界展望, 1992, 79(3): 567- 579
[5] 王实元. 高频电治疗牙本质过敏的临床观察[J]. 中华医学杂志, 2004, 3(3):37
[6] 郭分惠. 高频电灼牙髓干髓术一次法的组织病理及临床研究[J]. 临床口腔医学杂志, 1994, 10(4): 228
[7] Sasaki H, Ogawa T, Koreeda M, et al. Electrocoagulation extends the indication of calcium hydroxide pulpotomy in the primary dentition [J]. Clin pediatr Dent, 2002, 26(3): 275- 277
[8] Livaditis G.T. Vital pulp Therapy with bipolar electrocoagulation after intentional pulp exposure of fixed prosthodontic abutments : a clinical report [J]. prosth Dent, 2001, 86(4):400- 406
[9] Fishman SA Vdin KD; Good DL, et al. Success of electrofulguration pulpotomies covered by zinc oxide and eugenol or calcium hydroxide : a clinical study[J]. Pediatr Dent, 1996,18(5): 385- 390
[10] 郭分惠. 高频电流牙髓失活的动物实验研究[J]. 白求恩医科大学学报, 2000, 26(3): 325- 329
[11] 陈景藻. 现代物理治疗学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2001: 160 - 169

鸡红细胞融合最适条件的探讨

徐州师范大学生命科学学院 (徐州 221116) 赵彦禹 张艳华 冯照军

摘要 目的:探讨快速、有效的细胞融合条件。方法:用鸡红细胞为材料,聚乙二醇(Mw= 4000)为诱导剂,诱导鸡红细胞融合。结果:鸡红细胞融合的最适温度为 39℃,最适时间为 15min。结论:在该条件下,同时用 Giemsa 染液对融合细胞染色,实验观察效果明显。

关键词:细胞融合; 鸡红细胞; 聚乙二醇

Best Condition Studies on Fusion of Chicken Red Blood Cells

ZHAO Yan- yu, ZHANG Yan- hua, FENG Zhao- jun

School of Life Science, Xuzhou Normal University (221116)

ABSTRACT Objective: to find a more effective and easier method of cell fusion. Methods: Make chicken red blood cells to fusion, which was induced by PEG (Mw= 4000). Results: the most appropriate condition for cell fusion in the chicken red blood cells is 39 centigrade and 15 minutes. Conclusion: on this condition, the fusion phenomenon of chicken red blood cells is evident.

Key words: cell fusion; chicken red blood cells; PEG

细胞融合是两个或两个以上的细胞合并形成一个细胞的过程。在自然条件下,体内或体外培养的细胞均可发生自然融合,用人工的方法亦可诱导细胞发生融合。目前,细胞融合这一技术已成为研究细胞遗传、细胞免疫、肿瘤和培育生物新品种的重要手段。进行细胞融合实验,一般实验条件是聚乙二醇为诱导剂,融合温度是 37℃,时间为 30min,融合效率低,观察效果不明显。本文以鸡红细胞做实验材料,对实验条件作了一些改进,探讨融合的最适条件,以达到更好的实验效果。

1 材料与方法

1.1 材料

50% PEG(Mw= 4000), Alsever 液, 0.85% 生理盐水, GKN 液, 肝素, Giemsa 染液, 鸡全血

1.2 方法

1.2.1 50% PEG 的配制:称取少许 PEG(Mw= 4000)放入刻度离心管内,在沸水浴中加热,使其熔化,待冷至 50℃时,加入预热至 50℃等体积的 GKN 液,混匀,配成 50% PEG [1]

1.2.2 鸡血红细胞悬液的制备: 用灭菌的注射器吸入 1ml Alsver 液后从鸡翼下静脉取鸡血 2ml 注入刻度离心管内, 按照 3:1 (V/V) 加入 6ml Alsver 液混匀(放入 4℃ 冰箱内可保存 3-4 天)^[2]。

1.2.3 细胞融合温度的测定: 取上述细胞悬液各 1ml 移入 8ml 离心管, 加入 4ml 0.85% 生理盐水混匀, 1500r/min 离心 5min; 弃上清液(用吸管吸去)加 0.85% 生理盐水至 5ml, 混匀后 1500r/min 离心 5min; 重复上述条件, 再离心洗涤一次; 收集最后一次离心沉淀的血细胞, 将离心管倒置于滤纸上流尽剩余液体, 用手指轻弹底壁使沉淀松散, 加入适量的 GKN 液(2-3ml)混匀后待用; 取上述悬液, 用血细胞计数法计数, 再加 GKN 液将红细胞稀释成每毫升含 $3-4 \times 10^7$ 个后置于水浴锅内预热; 取悬液 1ml 至一离心管, 加入预热的 0.5ml 的 50% PEG(于一分钟内逐滴加入且边加边振荡), 分别放于 35℃、37℃、39℃、42℃ 水浴锅内温浴 20min, 取细胞悬液以 Giemsa 染液染色后观察细胞融合情况, 与此同时还有一常温下(20℃)的对照管。

1.2.4 细胞融合时间的测定: 选取一最适温度, 于 5、7、8、10、15、20、30 分钟取细胞悬液观察并计算融合率。

1.2.5 细胞融合率的计算^[3-5]: 在显微镜视野内, 计数其中已发生融合的细胞核, 未融合细胞核数, 计算融合细胞核数占细

胞核总数之百分比即融合率, 且进行多视野测定再加以平均统计。

其公式如下:

融合率= 融合细胞核数/ 总细胞核数(100%)

2 结果

2.1 鸡红细胞融合过程

通常可以把融合过程分成五个阶段: 两个细胞的细胞膜之间相互接触、粘连(图 1); 接触部位的细胞膜破溃(图 2); 两细胞之间细胞质相通, 形成细胞质通道; 通道扩大, 两个细胞连成一体(图 3); 细胞合并完成, 形成一个含有两个或多个核的圆形细胞(图 4)。上述阶段在不同时间的临时装片上可以观察到。

表 1 同一时间(20min), 不同温度下鸡红细胞的融合率

温度(℃)	20	35	37	39	42
融合率(%)	0	17	22	29	27

表 2 在 39℃, 不同时间下鸡红细胞的融合率

时间(min)	5	7	8	10	15	20	30
融合率(%)	21	23	20	31	35	31	32

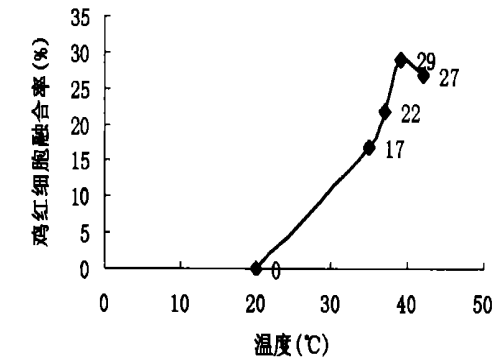


图5 相同时间(20min)不同温度鸡红细胞融合率

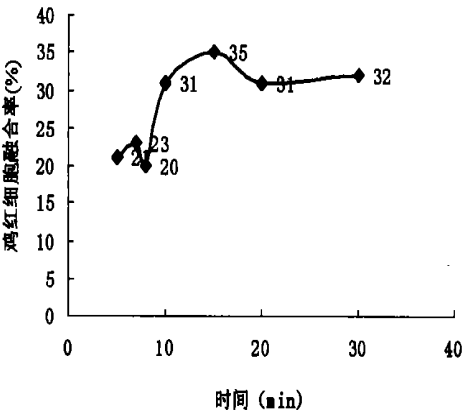


图6 39℃下, 不同时间鸡红细胞的融合率

(本文图 1~ 4 见封 3)

2.2 在同一时间(20min), 不同温度下(20℃、35℃、37℃、39℃、42℃)鸡红细胞融合

2.3 在同一温度(39℃), 不同融合时间下(5、7、8、10、15、20、30 分钟)鸡红细胞融合率

3 讨论

同一时间下, 鸡红细胞融合的最适温度为 39℃, 原因可能是随着温度的上升, 膜的流动性加快, 有利于细胞融合的进行。但温度过高, 融合率又降低, 因此融合温度须在细胞能承受的范围之内。最适温度下, 细胞融合的最适时间为 15min, 融合率不随时间推移而发生显著变化, 其结果与李李玉等^[6]所得结果一致。

鸡红细胞融合以后, 显微镜下观察时不易鉴别。本实验用 Giemsa 染液对融合后细胞进行染色, 镜检观察时极易鉴别融和细胞。

相对分子量 200~ 6000 的聚乙二醇均可用作细胞融合剂。本实验只采用了分子量为 4000 的, 其他分子量聚乙二醇对鸡血红细胞融合率的影响, 以及影响程度如何有待进一步探讨。

参考文献

[1] 杨汉民主编. 细胞生物学实验[M]. 二版. 北京: 高等教育出版社, 1997: 109- 110

[2] 李玲, 李雪峰. 细胞生物学实验[M]. 一版. 湖南科学技术出版社, 2003: 114- 116

[3] 兰州大学细胞学与遗传学教研室. 细胞生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1988: 82

[4] Spector L, et al. Cell[J]. A laboratory manual 1998: 13

[5] 鄂征. 组织培养[J]. 北京: 北京出版社, 1995: 193

[6] 李李玉, 胡火珍, 张建国. 用鸡红细胞取代 HeLa 细胞融合实验研究[J]. 四川解剖学杂志, 2002, 10(3): 132- 133

PKB/Akt 在高脂诱导鼠肾脏损害中的作用

(正文见 22 页)

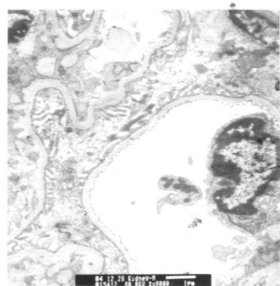


图1

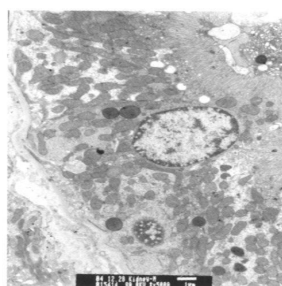


图2

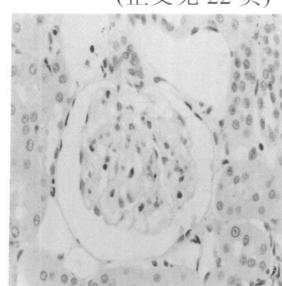


图3

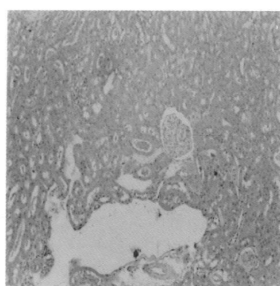


图4

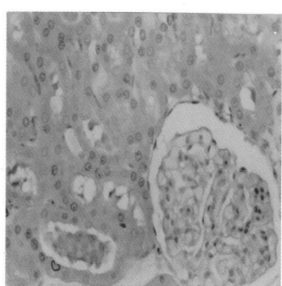


图5

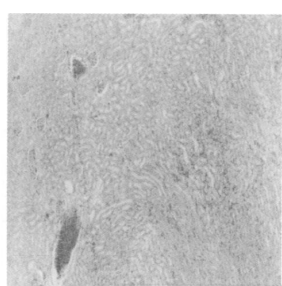


图6

鸡红细胞融合最适条件的探讨

(正文见 43 页)

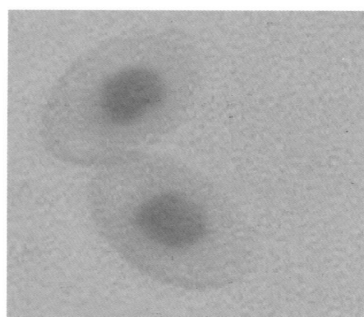


图 1

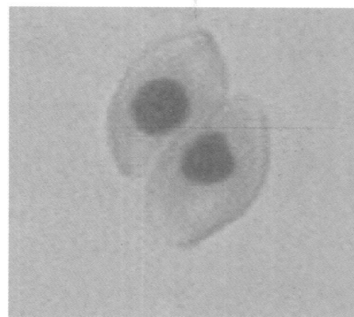


图 2

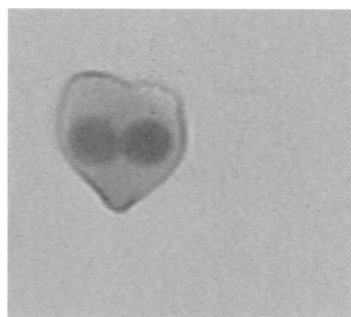


图 3

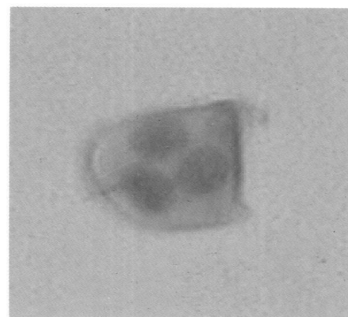


图 4