

## 巨噬细胞吞噬试验的简单方法

林清华

(武汉大学生物系微生物教研室)

巨噬细胞是机体免疫系统中重要的细胞成分之一,可以吞噬微生物和其他异物颗粒,在机体免疫应答中起着相当重要的作用。目前,高校在普通微生物学、免疫学等内容的教学中都有巨噬细胞吞噬实验,但常规的体内吞噬法对巨噬细胞吞噬和消化异物的时间不容易掌握。因巨噬细胞不是未吞噬就是吞噬物已被消化,而且动物的免疫系统在每个个体之间也有所差异,加上各人操作的误差,所制推片中,巨噬细胞数量的多少不同,甚至有的推片不易观察到巨噬细胞,实验时间也较长。为了克服这些弊病,我们采用体外吞噬法,效果很好,现将方法介绍如下。

### (一) 材料

1. 动物: 成年小白鼠,雌雄皆可。
2. 吞噬物: 酵母菌。于实验前一天将酵母菌接种于沙氏培养基上。实验时用生理盐水洗下酵母菌,并洗涤三次,每次经  $1500\text{r}/\text{min}$  离心 5 分钟。最后用 Hank's 液(可用生理盐水代替)配成  $8 \times 10^6$ — $4 \times 10^7/\text{ml}$  浓度的酵母悬液。
3. 动物腹腔灌洗液: 每毫升含 5—10 单位肝素的 Hank's 液(可用生理盐水代替)。
4. 固定液: 1% 的戊二醛。

5. 染色液: 1% 的美蓝水溶液。

### (二) 操作方法

1. 小鼠腹腔注射 2ml 腹腔灌洗液,轻揉腹部。3—5 分钟后,用注射器抽取腹腔液少许,滴加于盖玻片或载玻片上,每片 2—3 滴。
2. 将玻片放于平皿中,盖好皿盖,置  $37^\circ\text{C}$  孵育 1 小时,使巨噬细胞贴壁。
3. 取出玻片,用生理盐水轻轻洗去非贴壁细胞。
4. 每张玻片加酵母悬液 2 滴,将玻片置平皿内,于  $37^\circ\text{C}$  培养 30—40 分钟。
5. 取出玻片,用生理盐水轻轻洗去未被吞噬的酵母菌。用固定液固定 2—3 分钟,生理盐水冲洗、干燥,用染色液染色 1—2 分钟,冲洗,待干。
6. 油镜观察巨噬细胞吞噬酵母菌的现象。统计 100 个巨噬细胞中有多少个吞噬了酵母菌,将吞噬酵母菌的巨噬细胞数除以 100,即为吞噬细胞百分数。再统计 100 个巨噬细胞中一共吞噬了多少个酵母菌,将被吞噬的酵母菌总数除以 100,得出每个巨噬细胞吞噬酵母菌的平均数,即为吞噬指数。

如果在实验前 2—3 天给小鼠腹腔注射 6% 淀粉肉汤 1ml,则吞噬细胞百分数和吞噬指数都大大提高,因为淀粉可吸引巨噬细胞移动并集中于腹腔,糖原、蛋白胨等物质可激活巨噬细胞,而