

无小牛血清培养外周血淋巴细胞制备微核

唐孟俭 覃志英

中图分类号: Q691 文献标识码: B 文章编号: 1004-714X(2011)01-0090-02

【摘要】 目的 探讨无小牛血清培养外周血淋巴细胞制备微核的可行性。方法 采用常规淋巴细胞微核培养法,分别配制两种培养液(有小牛血清培养液和无小牛血清培养液),取静脉血约 0.5 ml 于无菌条件下接种于培养液中,放置培养箱内培养 72 h 后收获细胞,低渗液处理、固定液固定、常规制片, Giemsa 染色, 然后进行阅片和计数。结果 有小牛血清培养液实验组与无小牛血清培养液实验组($\chi^2 = 0.769$ $P > 0.05$) 的淋巴细胞微核率相比较, 差异没有统计学意义; 有小牛血清培养液实验组与有小牛血清培养液对照组($\chi^2 = 37.863$ $P < 0.05$)、无小牛血清培养液实验组与无小牛血清培养液对照组($\chi^2 = 39.178$ $P < 0.05$) 的淋巴细胞微核率相比较, 差异均有统计学意义。结论 采用无小牛血清培养外周血淋巴细胞制备微核是可行的。

【关键词】 无小牛血清; 淋巴细胞; 外周血; 微核

依据《淋巴细胞微核估算受照剂量方法》(WS/T187-1999)^[1], 在培养人体外周血淋巴细胞染色体和微核实验中需要加入小牛血清。由于小牛血清成分复杂, 有效期短, 易被病毒和支原体感染, 血清价格昂贵, 且每个批次的血清之间也存在批间差异, 实验效果不稳定, 因此在实验前都必须先做预实验, 增加了工作量和实验成本。近年来, 一些科研单位开展了“无血清培养淋巴细胞技术”的研究, 表明无血清培养淋巴细胞是可行的^[2-4]。我们实验室经过多年的实践^[5,6], 利用自身血清代替小牛血清培养淋巴细胞制备染色体和微核, 实验结果良好, 同时降低实验成本和减少工作量。现将无小牛血清与有小牛血清进行外周血淋巴细胞微核培养的实验结果进行比较, 结果是采用无小牛血清培养外周血淋巴细胞制备微核与有小牛血清培养外周血淋巴细胞制备微核的实验结果没有显著差异, 提示无小牛血清培养外周血淋巴细胞制备微核是可行的。实

验结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 材料 RPMI1640 为 GIBCO(美)产品, 植物血凝素(PHA) 为自制, 小牛血清为天津市生化生物制品厂产品血液标本: 实验组由广西某市放射工作人员提供, 对照组由本单位门诊体检人员提供。

1.2 培养液主要成分与配制见(表 1)

表 1 两种培养液的配制

培养液	小牛血清 (有/无)	RPMI1640 (g/100ml)	小牛血清 (ml)	PHA (ml/100 ml)	pH 值
a	有	1.1	0	2.5	7.2~7.4
b	无	1.1	25	2.5	7.2~7.4

1.3 实验组与对照组使用培养液及人员构成(图 1)

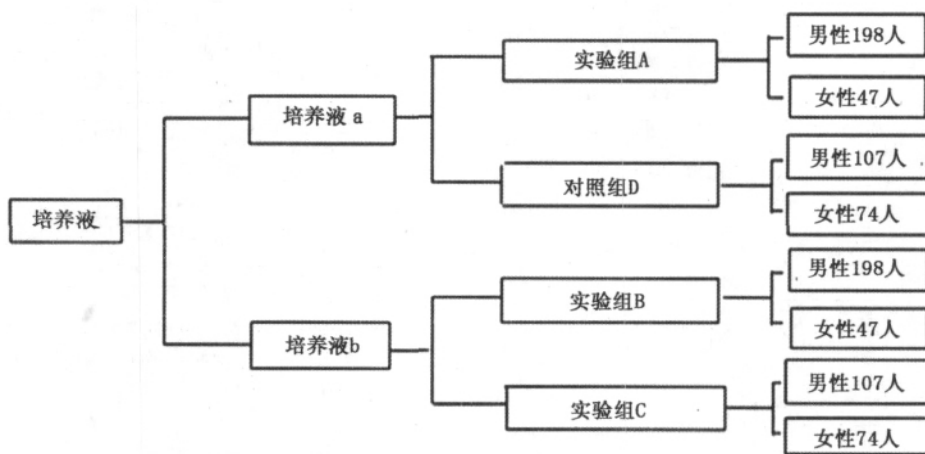


图 1 使用培养液实验分组及人员构成

1.4 方法 同一供血者的抗凝血约 0.5 ml 在无菌条件下各加入有 5 ml 无小牛血清培养液和有小牛血清培养液中, 摇匀, 放置(37±0.5)℃培养箱内培养 72 h 后收获细胞, 低渗液处理、固定液固定、常规制片, Giemsa 染色。

1.5 阅片和计数 采用盲法阅片, 在油镜下计数 1 000 个胞浆完整已转化的淋巴细胞。微核判定标准: 游离于细胞浆中, 与主核完全分离, 呈圆形或椭圆形, 边缘光滑, 嗜色性与主核一致或略浅, 直径小于主核 1/3。所有的阳性结果均由 2 人以上观

察鉴定, 并同时记录显微镜坐标备查。计数淋巴细胞微核, 微核率和微核细胞率以千分率表示。

1.6 统计学处理 用 χ^2 检验进行统计学分析。

2 结果与讨论

1.1 微核检测结果 实验组的平均微核率和平均微核细胞率均高于对照组。A 与 B 平均微核率相比较($\chi^2 = 0.769$ $P = 0.381$), 差异无统计学意义; A 与 C ($\chi^2 = 32.353$ $P = 0.000$)、B 与 C ($\chi^2 = 39.178$ $P = 0.000$)、A 与 D ($\chi^2 = 37.863$ $P = 0.000$)、B 与 D ($\chi^2 = 45.131$ $P = 0.000$) 的平均微核率相比较, 差异均有统计学意义, 见表 2。

进口矿产品的放射性远程监测设备及其探测器选择

严文勋¹ 李建军¹ 郑建明¹ 朱金连² 封亚辉¹ 程 薇¹

中图分类号: TL81 文献标识码: B 文章编号: 1004 - 714X(2011) 01 - 0091 - 04

【摘要】 目的 探讨进口矿产品放射性远程监测的探测器的合理选择。方法 在综合比较各类型监测设备探测器优缺点的基础上,提出进口矿产品放射性远程监测的探测器组成。结果 确定了用于进口矿产品放射性远程监测的探测器配置。结论 以塑料闪烁体作为口岸进口矿产品放射性远程监测设备的探测器可实现,为进口矿产品的放射性实施远程监测。

【关键词】 进口矿产品; 放射性; 远程监测; 塑料闪烁体探测器

随着我国进一步实施改革开放政策和国际间贸易的迅速发展,我国矿产品贸易迅速增长,品种涉及到金矿粉、银矿粉、铜矿砂、铁矿石、锌矿、铅矿、锆矿砂等 210 种。近年来,一些不法商人见利忘义,把携带有放射性物质或受放射性污染的物品掺杂在矿产品中出口至我国,尤以集装箱运载的矿产品为害较重。近年来对江苏口岸进口矿产品监管情况表明:多批矿产品放射性严重超标,有些矿产品的放射性水平超过国家标准的几倍、几十倍,甚至几百倍,部分矿产品中甚至夹带有人工放射性核素。由于这些伴有放射性物质的矿产品进口时往往没有标识任何危险标志,也没有采取任何防护措施,如果对这些放射性超标的矿产品达不到有效的监测(检测),导致其进入生产和流通领域,将会给我国工业生产和人民生命健康带来不可估量的损害^[1]。因此,研究进口矿产品的放射性检测和监测技术,

尤其是远程放射性监测技术,对于有效防止高放射性矿产品流入我国具有极其重要的现实和社会意义,已经得到口岸检验检疫部门的高度重视,并加紧进行相关技术和设备的开发研究。

1 国内外非成像型放射性监测(检测)设备

放射性监测技术分为成像型监测技术和非成像型监测技术^[2],成像型监测系统具有位置分辨能力和能谱分析能力,一般应用于放射源的贮藏和运输、核废物的处理、反恐怖、环境辐射污染监测、核电站和反应堆监测、放射性实验室以及医疗部门监测等领域,目前国内还不具备成套的成像型放射性监测系统。相比成像型放射性监测系统,非成像型放射性监测系统不具备位置分辨能力,但构造更为简单,价格更为便宜,对口岸进口矿产品放射性的监测采用非成像型监测设备已足够满足监测的要求。

1.1 国内的非成像型放射性监测(检测)设备 1994 年,中国原子能研究院研制了我国第一台大型高分辨分段 γ 扫描仪 (SGS)^[3],用于秦山和大亚湾核电站燃料组件产生的可燃废物检测。

基金项目: 国家质检总局科技计划项目,编号: 2009IK121
作者单位: 1 江苏出入境检验检疫局,江苏 南京 2010001;
2 镇江出入境检验检疫局,江苏 镇江 212003
作者简介: 严文勋(1980 ~),男,湖北荆州人,工程师,博士,从事代矿金相关检测研究工作

表 2 实验组与对照组微核率和微核细胞率

组别	例数	观察细胞数(个)	微核率(‰)	微核细胞率(‰)
实验组 A	245	490 000	1.50(736/490)	1.50(736/490)
实验组 B	245	490 000	1.57(770/490)	1.57(770/490)
实验组 C	181	181 000	0.93(168/181)	0.99(179/181)
实验组 D	181	181 000	0.88(160/181)	0.94(170/181)

2.2 讨论 外周血淋巴细胞培养制备染色体和微核,往往是在培养基中添加一定量的动物血清或人的血清和植物血凝素 (PHA),作为供给细胞的营养成份和提供细胞增殖的生长因子。无小牛血清培养液的成分一般认为由两部分组成,即基础培养基和替代血清的补充因子,基础培养基目前大部分使用的是 RPMI1640,补充因子是无血清培养基中各种血清替代成分的总称。

血清对培养淋巴细胞的影响的主要作用在于向细胞提供生长增殖所需的激素、生长因子和其他营养物质,但由于小牛血清成分复杂,有效期短,易被病毒和支原体感染,每个批次的血清之间也存在批间差异,另也增加实验成本,按照目前市场销售的血清平均价格约为 0.25 元/ml,按 25% 添加量计算,100 ml 培养液中血清所占的成本是 6.25 元,培养基及其他添加物的成本约为 6 元,每 100 ml 培养液的成本中血清约占 51%,另外血清中还含有一定细胞毒性物质和抑制物质,也对细胞产生一定的影响。

基于血清对淋巴细胞培养的作用,我们实验室利用人体自身血清来代替小牛血清培养淋巴细胞,这样既可消除异体血清中不明成份对淋巴细胞培养的影响,又克服了易污染的难题,提高了外周血淋巴细胞染色体和微核制备的安全性,同时简便了培养液配制和操作,减轻了工作量和节约实验成本。通过有小牛血清和无小牛血清进行培养外周血淋巴细胞制备微核的实验结果显示,有或无小牛血清对培养淋巴细胞微核没有统计学意义,提示采用无血清培养外周血淋巴细胞制备微核是可行的。

参考文献:

[1] WS/T187 - 1999 淋巴细胞微核估算受照剂量方法[S].
[2] 丛慧芝,陈平乐,张慧芳,等. 一种低成本、易取材制备外周血染色体新方法研究[J]. 中国计划生育学杂志,1994,6(14): 345 - 346.
[3] 历广坤,黄秀君,程介山,等. 无小牛血清外周血淋巴细胞培养液的研究[J]. 中国优生与遗传杂志,1999,7(2): 56 - 57.
[4] 高文和,熊连富,许德新. 无血清的外周血淋巴细胞制备染色体[J]. 中华医学遗传学杂志,1996,13(4): 243.
[5] 梁星作,梁新初,毛玉蟾,等. 放射工作者外周血象与淋巴细胞染色体畸变分析[J]. 中国辐射卫生,2000,9(2): 123.
[6] 覃志英,唐孟俭,黎军,等. 广西河池市 290 名放射工作人员外周血淋巴细胞微核分析[J]. 中国辐射卫生,2007,16(3): 308 - 309.
(收稿日期: 2010 - 09 - 03)