

ATP 酶整装片法检测小鼠新生鼠表皮郎格汉斯细胞研究*

★ 丁莹 林色奇 朱卫丰 (江西中医学院 南昌 330006)

摘要:目的:比较两种不同的表皮分离方法。方法:采用 EDTA 和分离酶两种方法分离小鼠新生鼠表皮。结果与结论:ATP 酶整装片法检测表皮 LC,用分离酶分离的表皮中的 LC 的结构看得比较清晰,表皮基底层细胞结构比较完整,分离酶分离表皮的效果较 EDTA 法好。

关键词:表皮郎格汉斯细胞;ATP 酶整装片法

中图分类号:R 965 **文献标识码:**A

郎格汉斯细胞是树突状细胞家族中的一员,是皮肤中主要的抗原提呈细胞,在皮肤免疫中起着关键作用。目前检测 LC 的方法主要有金属法、ATP 酶法及免疫组化法,其中 ATP 酶法具有简单、易行、重复性好等优点,其技术关键是皮肤中表皮的分离。本文采用 EDTA 和分离酶两种不同的方法分离表皮,用 ATP 酶整装片法检测小鼠表皮郎格汉斯细胞,并比较了两种不同的表皮分离方法对检测结果的影响。

实验原理:表皮郎格汉斯细胞内存在 ATP 酶,且是表皮中唯一存在这种酶的细胞,ATP 二钠盐在 ATP 酶的作用下游离出磷酸根离子,与孵育液中的铅离子形成磷酸铅沉淀,硫化铵染色液与磷酸铅反应生成棕黑色的硫化铅附着于 LC 细胞的表面,由此观察 LC 细胞的存在。

1 材料和方法

动物:出生 5 天的 SD 小鼠新生鼠皮肤为材料。

主要试剂:Dispase 分离酶(Roche),二乙胺四乙酸二钠(EDTA-Na)、三羟甲基氨基甲烷、葡萄糖、马来酸(中国医药集团上海化学试剂公司),ATP-2Na,甲醛、硝酸铅、硫酸镁(广东省汕头市西陇化工厂),硫化铵(上海通亚精细化工厂)。

试剂配制:EDTA 分离液:6.83 g NaCl,0.2 g KCl,1.15 g NaHPO₄,0.2 g KHPO₄,0.12 mL 1% 酚红,5 g NaEDTA,加双蒸水至 1000 mL,pH 调至 7.4。

固定液:8% 的福尔马林 Trisml 缓冲液。

ATP 原液:50 mg ATP 二钠,5 g 葡萄糖,50 mL 双蒸水,40 mL TrisBuffer,10 mL,0.1 mol/LMgSO₄·7H₂O。

TrisBuffer:12.1 gTris,11.6 g 顺于烯二酸,4 g 氢氧化钠,400 mL 双蒸水。

孵育液:2.7 mL ATP 原液,0.3 mL 2% 硝酸铅溶液,临用时配制。

染色液:0.5% 的稀硫化铵。

主要仪器:多功能培养箱 SANYO MIR-162 型,

OLYMPUS 光学显微镜。

表皮整装片 ATP 酶法显示 LC:取小鼠新生鼠皮肤,洗净,除去皮下组织,分别投入 EDTA 液及分离酶中,37℃ 水浴中加热(EDTA 液中 30 分钟,分离酶中 20 分钟),取出,用眼科镊轻轻分离出表皮,将分好的表皮置生理盐水中浸泡 30 分钟,福尔马林 Trisml 缓冲液中 4℃ 冰箱固定 20 分钟,取出,双蒸水洗涤数次,置 ATP 孵育液中,37℃ 孵育 20 分钟,取出,双蒸水洗涤,稀硫化铵液中染色 20 分钟,双蒸水洗涤,装片,甘油-明胶封片。

2 实验结果

两种不同表皮分离方法镜下观察的表皮 LC 细胞,见图 1、图 2。(棕黑色点状即为 LC)。

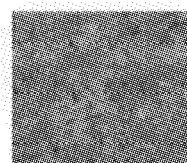


图 1 EDTA 法分离表皮中的 LC

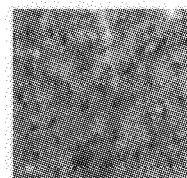


图 2 分离酶分离表皮中的 LC

3 讨论

在本实验中,表皮的分离是实验的关键,消化液的浓度、消化时间、消化温度、pH 值等对实验都有很大的影响,采用

* 江西省教育厅实验室建设经费项目

中医药高等职业技术教育人才培养模式构建探析*

★ 俞双燕 (江西中医学院 南昌 330008)

关键词:高等职业技术教育;中医药;人才培养模式

中图分类号:R-05 文献标识码:A

高等职业教育是职业教育的重要组成部分,在职业教育领域里发挥着龙头作用,代表着职业教育的发展方向。国家已把职业教育的发展和国家的发展摆在了同一高度。根据最新统计数据表明,日前,我国的高等职业院校已突破了1100所,而本科院校仅700所,数量上显现出蓬勃的发展势头。“十一五”期间,高等职业教育将要从外延的发展进一步转化到内涵建设上来,以打造高等职业技术教育品牌,办深受社会欢迎的高等职业教育。

处于本科与中等职业技术教育夹缝中的中医药高等职业技术教育,如何找准自己的市场定位,办出特色,培养出社会欢迎的技能型人才,是中医药高等职业院校面临的一个紧迫且重要的课题。

本文藉多年从事高职教育的实践体会和对目前国内中医药高职教育现状的调查,分析了当前中医药高等职业教育的特点和存在的问题,并就如何构建中医药高等职业技术教育人才培养模式谈一些个人观点。

1 中医药高等职业技术教育的特点

1.1 在教学体制上融“高”与“专”于一体 中医药高等职业教育首先是高等教育,同时又是高层次的职业教育,目标是培养中医药行业生产、管理、服务第一线需要的高素质、高技能应用型人才。在人才培养取向上既以较强的实践动手能力和分析、解决生产实际问题的能力区别于普通高等教育,又以较宽的知识面和较深厚的基础理论知识区别于中等职业教育。因此,中医药高等职业技术教育既不是本科教育的

简单“压缩”,亦不是中等职业教育的单纯“复制”,更强调对职业技能的培养,是以社会人才市场需求为导向的就业教育,侧重培养活跃在医疗、药品生产及经营管理一线的高级技师和专业技术人员。在理论素养上求“高”,在实践能力上求“专”是中医药高等职业技术教育有别于普通高等教育和中等职业教育的最大特色。

1.2 人才培养“长”周期性的特点 中医药高等职业技术教育是既具有普通高等职业技术教育的共性,又具有自身特点与规律的一种高等教育,体现在教学过程中既要传授医学科学知识,又要传授民族传统文化知识的专业教育。高等职业技术教育的人才主要特征是有较高的应用技术水平,以获得较强的综合职业能力为目标,是应用型、技术型高级专门人才。其人才在规格上一方面要求有熟练的操作技能,另一方面还要从理论上知道为什么要这样做,这样就需要系统的数学、物理、化学和专业基础知识做铺垫,这种系统的培养需要的时间一般不得少于3年。

1.3 就业岗位的基层性与执业水平高标准要求并存的特性

由于高职教育培养的学生是为生产第一线服务的,因此高职毕业生的就业去向具有很强的基层性,事关国家医疗卫生事业的普及、老百姓的生命安全和社会稳定。同时,我国对这一领域已实行职业资格准入制度,其中有些重要岗位还实行执业资格准入制度。以高职制药专业为例:毕业生主要在药品生产岗位从事配料、制备、灌装、检验、设备维护等工作,由于药品不同于普通商品,必须按国家药品标准生产,任何

* 江西省教育厅教研教改资助课题。赣教高字[2004]100

EDTA及分离酶两种方法,结果表明,分离酶更易分离表皮,且分离的表皮比较完整,表皮基底层细胞清晰可见,减少了成纤维细胞的污染,表皮中LC细胞的结构看得比较清晰。

近年来,LC在皮肤免疫中的作用引起了越来越多的关注^[1~2],而LC的检测是各种研究的前提,ATP酶法是所有检测方法中最经济、可行的方法,在一般的实验室均可操作。ATP酶法中,表皮的分离是实验的关键,如何摸索出一种良好的表皮分离方法有待于进一步的研究^[3],本实验在传统的表皮分离方法(EDTA法)上,采用分离酶分离,结果证明,分

离酶法有望成为一种较好的表皮分离方法。

参考文献

- [1] 毕建军,伍津津,唐书谦,等.皮肤组织工程的基础研究:三磷酸腺苷酶染色法定性及定量观察猪表皮朗格汉斯细胞[J].中国临床康复,2005,9(2):54~55
- [2] 余耀南,汤乐民,徐邦生,等.胎鼠和新生小鼠表皮朗格汉斯细胞的组织化学和电镜组化研究[J].解剖学杂志,1994,17(5):15
- [3] 伍津津,朱堂友,鲁元刚,等.表皮真皮分离方法的探索[J].第三军医大学学报,2004,26(24):2242~2244

(收稿日期:2006-03-20)