

ОКРАСКА РНК В МАЗКАХ КРОВИ И КОСТНОМОЗГОВЫХ ПУНКТАТОВ

М. С. ЖАКОВ, И. М. КАРПУТЬ

Для окраски рибонуклеиновой кислоты (РНК) по методу Браше применяют растворы пиронина Ж и метилового зеленого в смеси с ацетатным буфером, рН которого 4,8 (Пирс, 1962; Симакова, 1960 и др.). Применяя краску, приготовленную с ацетатным буфером при рН 4,8, мы выяснили, что в мазках крови и костномозговых пунктатов сельскохозяйственных животных окрашиваются только ядерные клетки, а эритроциты, как правило, растворяются. В связи с этим невозможно изучать в эритроцитах полихроматофилию, базофильную субстанцию и базофильную пунктацию.

В результате многочисленных опытов мы убедились в том, что растворения эритроцитов не происходит при использовании краски, приготовленной с ацетатным буфером, в котором рН 5,6. При взятии ацетатного буфера с более низким значением рН всегда наблюдался лизис эритроцитов.

Краску готовили по прописи Р. А. Симаковой (1960), однако рН применяемого нами ацетатного буфера равнялся не 4,8, а 5,6. В 4 мл дистиллированной воды растворяли 20 мг очищенного в хлороформе метилового зеленого, а в 9 мл дистиллированной воды — 90 мг пиронина Ж. Оба раствора смешивали и к полученной смеси добавляли 12 мл дистиллированной воды и 25 мл 0,1 нормального ацетатного буфера с рН 5,6. В результате получалось 50 мл краски, которая не нуждалась в созревании и была пригодна в течение нескольких месяцев. Можно количество всех растворов и дистиллированной воды уменьшить в 2 или 4 раза, в результате чего получается соответственно 25 или 12 мл краски.

Оставшиеся растворы пиронина Ж и метилового зеленого использовали для приготовления новых порций краски.

Окрашивали препараты следующим образом. Мазки крови и костномозговых пунктатов высушивали на воздухе, фиксировали в метаноле в течение 5—10 минут, накапывали на них пипеткой краску и выдерживали 3—5 минут. Затем краску сливали, мазки тщательно промокали фильтровальной бумагой и подсушивали на воздухе. На окраску, не считая фиксации, затрачивали не более 5—10 минут.

Результаты окраски. РНК ядерных клеток окрашивалась в ярко-красный, ДНК — в сине-зеленый, зрелые эритроциты — в оранжевый цвет. Полихроматофильные эритроциты имели оранжево-красную, а базофильная субстанция и пунктация — ярко-красную окраску, что указывало на содержание в них РНК. В контрольных мазках, окрашенных после обработки их рибонуклеазой, РНК ядерных клеток, полихроматофилия, базофильная субстанция и пунктация эритроцитов не выявлялись.

Таким образом, применение для окраски мазков крови и костно-мозговых пунктатов пиронина Ж и метилового зеленого в смеси с ацетатным буфером, имеющим рН 5,6, позволяет выявлять РНК не только в ядерных клетках, но и в незрелых формах эритроцитов с полихроматофилией, базофильной субстанцией и базофильной пунктацией.

Этой краской хорошо окрашивались и гистосрезы. Материал фиксировали в жидкости Карнуа и заключали в парафин. Срезы толщиной 5—7 микрон наклеивали на предметные стекла, депарафинировали ксилолом, проводили через спирты нисходящей крепости и промывали в дистиллированной воде. На предметное стекло со срезом пипеткой накапывали краску и выдерживали 5—10 минут. Затем краску сливали, срез промокали фильтровальной бумагой, кратковременно промывали в 96°-ном спирте для удаления избытка пиронина Ж, снова промокали фильтровальной бумагой, просветляли в двух порциях ксилола и заключали в бальзам. Продолжительность окраски 10—15 минут.