

Dr. KALMÁR FERENC főiskolai adjunktus:

A KARMINECETSAVAS GYÓGYMÓDSZERREL KÉSZÜLT KÉSZÍTMÉNYEK TARTÓSÍTÁSA

(Közlemény az Egri Pedagógiai Főiskola Állattani Tanszékéről)
4 fotográfiával

A karminecetsavas gyorsmódszer, amit L. GEITLER írt le, kitűnően alkalmazható sejttani vizsgálatokhoz. A karmin ecetsav (KE) rögzíti és ugyanakkor erősen megfesti a chromosomákat és a nyugvó magot, gyengébben pedig a plasmát. Az ecetsav könnyen behatol a sejtekbe és magával viszi a karmint, egyben a sejteket szöveti kötélékükből kiszabadítja, s így azok egymagukban vizsgálhatók. A rögzítés azonban nem minden vizsgálati anyagnál tökéletes. Ahol az ecetsavas rögzítés nem elegendő, ott alkoholecetsavval kell festés előtt rögzíteni.

A módszer egyaránt használható növényi vagy állati sejtek vizsgálatához, széles körökben alkalmazható, mert véghezviteléhez különleges felszerlésre nincs szükség. A preparátum percek alatt elkészíthető. Iskolai szemléltetési célokra is kiválóan alkalmas. Különleges gyakorlatot sem igényel, akár a tanulók is készíthetnek e módszer segítségével (pl. szakkörön) jól használható készítményeket. Elsősorban a sejt életjelenségei (osztódás), valamint egysejtűek tanulmányozhatók karmin-ecetben, másodsorban egyéb szöveti sejtek megfelelően szétbontva, továbbá néhány mn. nagyságú alsórendűek szervei boncolás után tárgylemezen kiterítve igen szép képet adnak.

A sejttani kutatások alkalmával az észlelt sejttani változásokat fényképezés útján rögzítik, a készítményt pedig megsemmisítik ui. az kiszáradás után használhatatlanná lesz. Ismeretesek ugyan olyan módszerek, amelyek segítségével napokig (pl. *glicerines* karminban, körülkeretezve, aszfaltlakkal). esetleg hosszabb ideig is (víztelenítés után balzsamban) eltartható és vizsgálható a készítmény. Évek múltával azonban a balzsamos készítmények is színüket veszítik, elmosódnak. További vizsgálatra alkalmatlanná válnak. (Schweizer, 1942.)

A valódi, eredeti készítmény mindig beszédesebb bizonyíték a fényképnél. A fényképezés csak kis területre (néhány mikroszkópi látótér) szorítkozik. Megtörténhetik, hogy a későbbiek folyamán fontosnak bizonyuló részlet elkerülte a figyelmet. Viszont mikrofotografálásra a már elromlott készítmény nem

használható. Ilyen meggondolás mellett törekedtem arra, hogy a karmin jó tulajdonságainak megőrzése mellett, annak kifakulását megakadályozzam. 1946-ban olyan mikroszkópi készítmények elkészítésére találtam módszert, amelynek segítségével a preparátumok hosszú időn át vizsgálhatók és ugyanúgy használhatók, mint elkészülésükkor.

A festék tartósítására jónak bizonyult más kutatók tapasztalataival (BAKER) ellentétben a vas-só (ferri) pácolás. A ferri ion hatására a karmin színe, — mint az már ismeretes —, kedvezően megváltozik. A mag chromatinja és a chromosomák először liláspiros, majd sötétlila, erős kezelés után lila színűvé válnak. Ugyanakkor a gyengén festett plazma mindig piros színével jól elkülönül.

A pácolás nélküli készítményekben ilyen fokú differenciáltság nem tapasztalható.

Mikroszkóp alatt ellenőrizhető a színváltozás mértéke, a pácolást tehát a megfelelő fokig végezzük. Gyengén savanyú közegben előállítva a vas-karmin (FK) hasznos színváltozása mellett, tartós készítménynek mutatkozott. Az így készült preparátum közel tíz esztendei raktározás után is az újonnan készült szépségével hat. Ugyanakkor az ellenőrzés céljából előállított készítmények, amelyekben a pácolás elmaradt, vizsgálhatatlannak, a sejtekben az alkotórészeket felismerni nem lehet.

A sejttani készítmények festésének és tartóssá tételének a módja a következő:

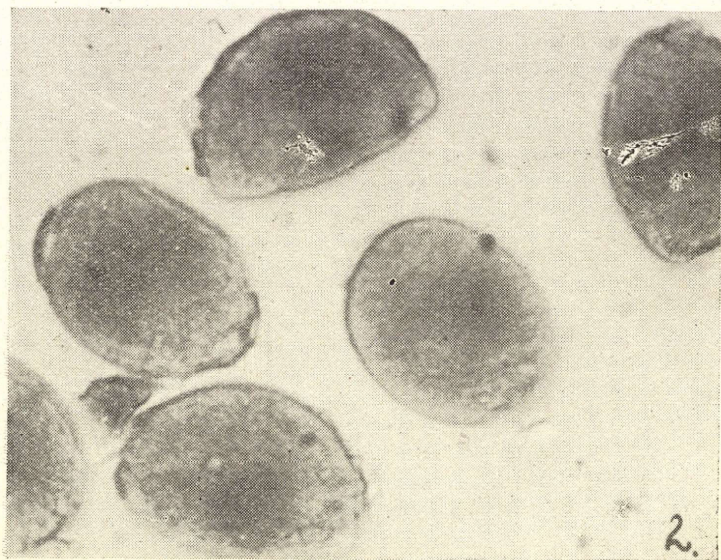
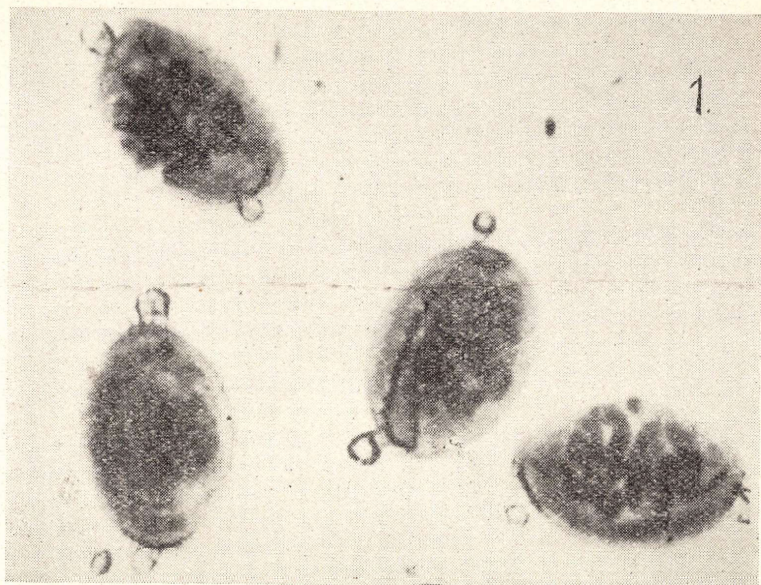
1. Festés KE-val.

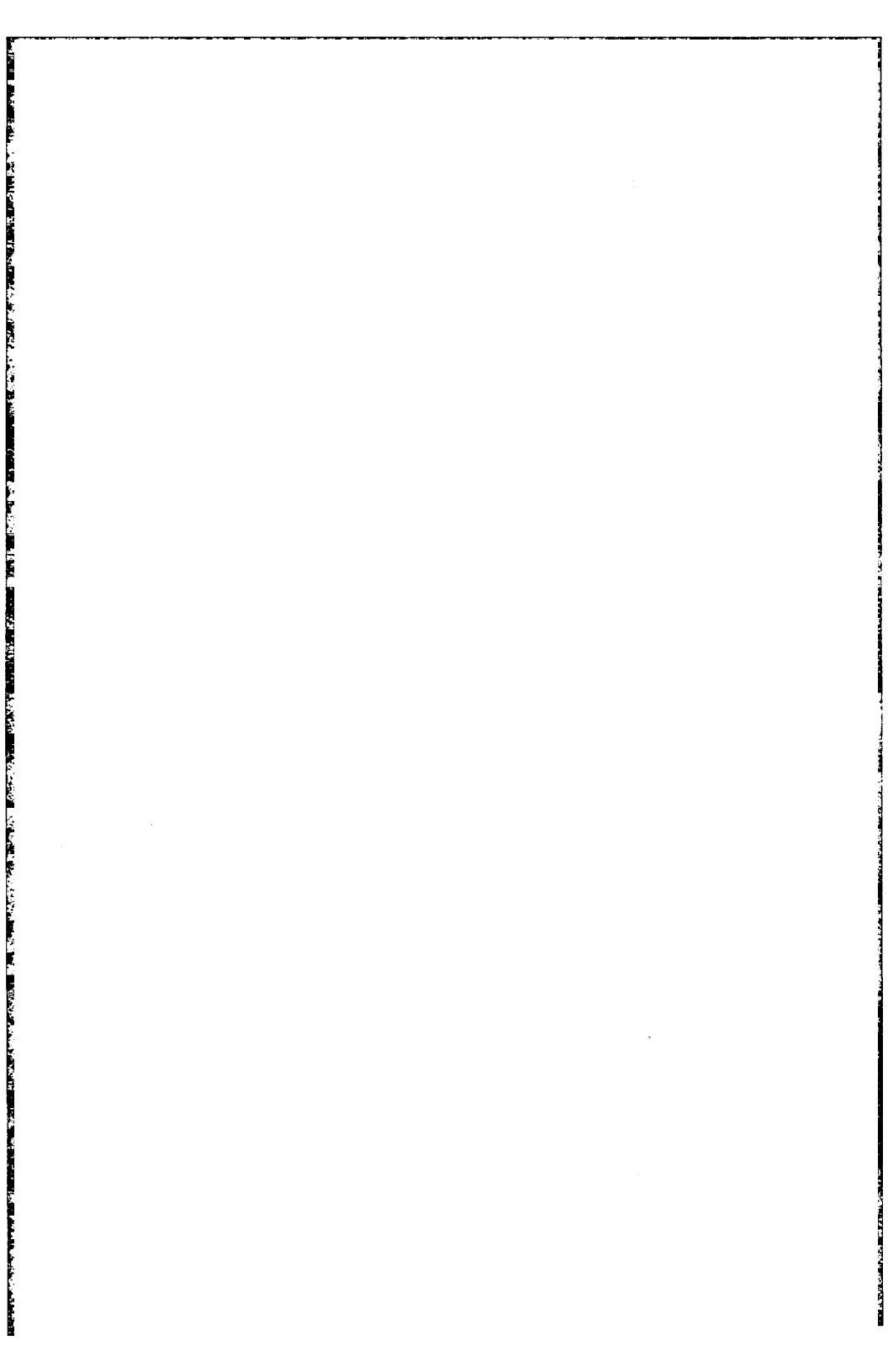
A KE Schneider leírása szerint készül. Rp.: 45 tf. cc. ecetsav, 55 tf. desztillált víz, kb. 5 gr karmin (rubr. opt.).

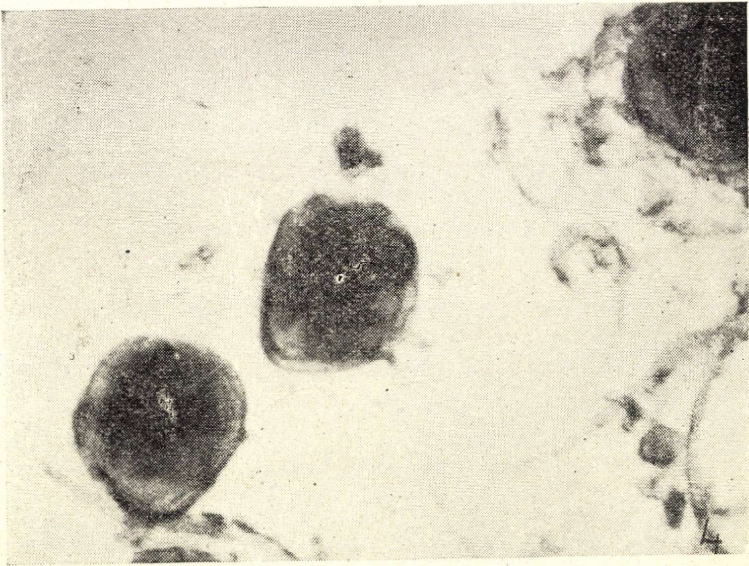
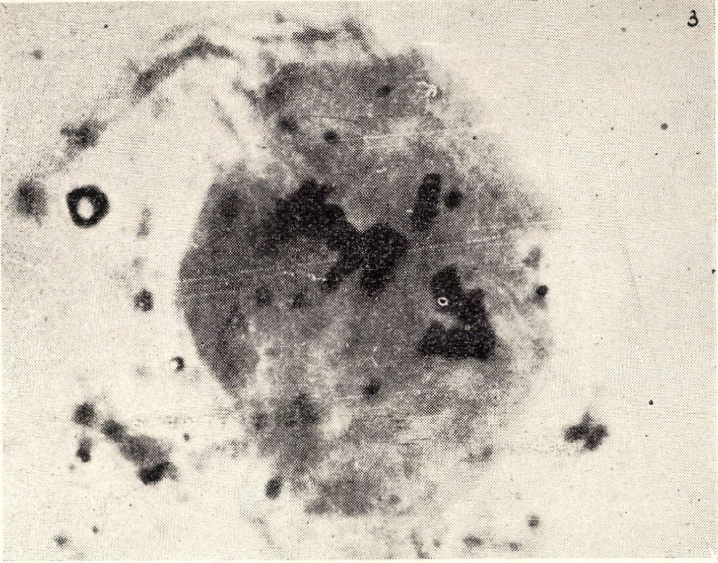
A keverék lombikban gyengén főzendő, féltől egy óra hosszat. Viszafolyó hűtő segítségével megakadályozzuk az oldat összetételének megváltozását. A telített festőkeveréket kihűlés után megsűrjűnk és üveg dugós üvegben tartjuk. Nem romlik. Időnként, ha zavarosodik, a kicsapódó karminról a tiszta oldatot leszűrjűnk.

A szövetrészt, melyet vizsgálni kívánunk, tárgylemezre tesszük és KE festékoldatot cseppentünk reá. Ellapított végű üvegbottal gyengén nyomkodjuk a vizsgálati anyagot. Ekkor az ecetsavtól fellazult sejtek szöveti köteléküktől szabaddá lesznek és a KE oldatban szuszpenzálódnak. Így a KE gyorsabban behatolhat a sejtekbe, ami a jó festődés előfeltétele.

2. A sejteket tartalmazó KE oldatot egy másik tárgylemezre folytatjuk át ügyelve arra, hogy a nagyobb szövettöredékek átne jussanak. Fedőlemezzel lefedjűnk. Mikroszkóp alatt ellenőrizjűnk a festődést és ha megfelelőnek találtuk a festést, valamint







a készítményt a tartósításra, következhet a karmin átalakítása tartós vaskarminná. (FK).

Időközben a sejtek leülepednek a tárgylemezre és a fedőlemez szélén megszáradó festék a fedőlemezt rögzíti. Ezért a későbbiek során a sejtek nem úsznak el olyan könnyen.

3. A fedőlemez két széléről óvatosan elkaparjuk a száraz festéket. Az egyik oldalra szűrőpapír csíkot helyezünk. Ez kiszívja a fedőlemez alól a felesleges festéköldatot. A papírcsíkot időnként cserélni kell. Ugyancsak változtatni kell annak helyét is. Minden cserélés után az ellenkező oldalra helyezve a szűrőpapírcsíkot a sejtek egyirányú áramlását és így a fedőlemez alól való kijutását megakadályozhatjuk.

A fedőlemez ellentett oldalára pedig a következő pontokban felsorolt oldatokat cseppentjük:

4. Alkoholecetsavat (AE), amely abszolút alkoholnak (vagy 96%-os alkoholnak) és jégecetnek egyenlő arányú keveréke. Ez az oldat a KE-t kimossa a lemez alól, a sejteket differenciálja.

5. Ferrum sesquichloratum 20%-os oldatának és 96%-os alkoholnak egyenlő keverékét (FA). Ez az oldat a karminfestést tartóssá teszi.

6. 96%-os alkoholt, amely a FA-t kimossa.

7. Abszolút alkoholt, amely víztelenít.

8. Xylol alkoholt (egy tf, xylol és egy tf. absz. alkohol keveréke), amely örvény keletkezése nélkül keveredik a fedőlemez alatt levő abszolút alkohollal.

9. Xylolt.

10. Xylollal hígított kanadabalzsamot.

A képek jegyzéke és magyarázata:

1. *Allium Victorialis*, pollem anyasejtek. Festés FK-val 1947. V. 1-én. N.: 60x10x5.

2. *Allium Victorialis* u. a., mint 1. Festés KE-val 1947. V. 1-én. N.: 60x10x5.

3. *Triaxalis nasuta spermogonium*. Festés FK-val 1946. IX. 9-én.

4. U. a. Festve KE-val.

A mikrofelveletek 1956. január hóban készültek.

Irodalom:

Baker, J. R. (1945): Cytological technique. p. 145-155. — **Belar, K.** (1928): Die Technik der deskriptiven Cytologie. In *Method. d. wiss. Biologie*, herausgeg. v. Péterfi, Bp. I. p. 638-735. — **Belling J.**: *Amer. Nat. Tom.* 55., p. 573. — **Fyg, W.** (1928): Über einige Karminfärbungen. *Ztschr. wiss. Mikrosk.* Bd. 45. p. 442-454. — **Geitler, L.** (1934): *Grundriss der Cytologie.* p. 283-287. — **Geitler, L.** (1940): Schnellmethoden der kern- u. Chromosomenuntersuchung. p. 1-160. — **Romeis, B.** (1948): *Taschenbuch der mikroskopischen Technik.* — **Schneider, A.** (1880). *Anat. Anz., Tom.* 3. p. 252.