

几种显示姐妹染色单体差别染色(SCD)的简便方法

陈采琴 樊蓉 田竞生

(中国科学院生物物理研究所) (北京市肿瘤防治研究所)

近年来,姐妹染色单体差别染色(简称SCD)技术,特别是姐妹染色单体互换(简称SCE)分析技术,已为细胞遗传学研究提供了一种新手段,在染色体的分子结构,DNA复制过程,DNA损伤与修复,细胞周期动力学以及检测多种致癌剂和突变剂等研究领域中得到广泛应用。

1973年Latt^[1]首先利用BUdR-Hoechst 33258荧光技术,在培养的人类淋巴细胞染色体中,得到了SCD,并检测出SCE。1974年Perry和Wolff^[2]以及Korenberg^[3]等人先后改用了Giemsa染色来代替Hoechst荧光染色,制备出永久保存的SCD标本。1977年Takayama等人改用了先经强酸处理,再用Giemsa染色显示SCD的方法。同年,Scheres等人^[5]又改用了先经胰蛋白酶溶液处理,再经碱性品红(Basic Fuchsin)染液染色显示SCD的方法。这样就更加简化了实验步骤,缩短了制备SCD标本的时间。

我们参照了Korenberg、Takayama、Scheres等人的方法,根据现有条件及设备,对制备SCD标本进行了摸索,加以改进,并制备出人类淋巴细胞的SCD标本。这些方法操作简便,易于成功,适合于一般实验室应用。现介绍如下:

一、染色体标本的制备

要获得满意的SCD标本,玻片上一定要有数量足够、染色体分散良好的分裂中期细胞。这对于下述任何一种显示SCD的方法来讲都是重要的一环。

采健康人静脉血、肝素抗凝,每瓶培养液内含有Eagle液4毫升,小牛血清1毫升,自制植物血球凝集素(PHA)0.2毫升(广州鸡子豆、盐水提取法),肝素0.05毫升(配制成500国际单位/毫升的工作液)。培养开始时加入BUdR,其最终浓度为10—20微克/毫升,同5.6%的碳酸氢钠溶液将上述混合培养液调至pH7.0—7.2。接种全血0.3—0.4毫升。摇匀后在完全黑暗的条件下,置37℃温箱内培养72小时。培养结束前4—6小时加入秋水仙素,最终浓度为0.08微克/毫升。

制片:终止培养后,以1000转/分钟离心10分钟,除去上层培养液,留0.5毫升,加入5.5毫升0.075

M KCl溶液,置37℃温箱中低渗处理15分钟,再1000转/分钟离心10分钟,除去全部低渗液,用新鲜配制的甲醇、冰醋酸(3:1)固定。固定液更换三次,共约固定90分钟,滴片,空气干燥。

二、姐妹染色单体差别染色法

1. BUdR-Giemsa法(简称B-G法)

此法本文作者已有报道^[6],此处略述如下:玻片标本室温保存不得少于1—2天,而后浸入已在水浴内预热到83—85℃的1.0M NaH₂PO₄溶液中15分钟。此溶液在配制时用固体NaOH调至pH8.0。取出玻片立即置温蒸馏水中漂洗,再经蒸馏水冲洗,待干后用8% Giemsa液(用pH6.8—7.0的磷酸盐缓冲液配制)染色8—10分钟;透明,封片。

2. BUdR-Basic Fuchsin法(简称B-BF法)

溶液配制:①0.01%胰蛋白酶溶液:先将无钙、镁Hanks溶液调至pH7.0,再加入胰蛋白酶置于冰箱过夜,使其充分溶解。②0.1%碱性品红染色液:先配成0.1N NaOH:甲酰胺(Farmamide):蒸馏水为1:1:1的混合液,然后用NaOH将此液调至pH10—10.2,再加入碱性品红粉,即成。

操作步骤:玻片标本须于室温保存3—7天方能染色。标本置于0.01%胰蛋白酶溶液中,在0—3℃的低温下处理7分钟,取出标本立即用蒸馏水充分冲洗,待干后置于0.1%的碱性品红染液中染色2—3分钟,蒸馏水冲洗;空气干燥后透明,封片,即可得到清晰的

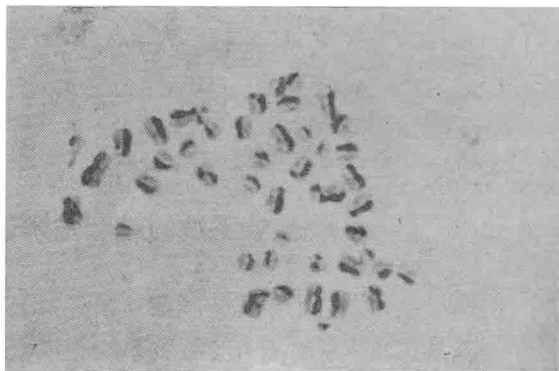


图 1



图 2

SCD 标本(图 1)。

3. BUdR-HCl-Giemsa 法(简称 B-H-G 法)

溶液配制: ①0.01% 胰蛋白酶溶液: 配法同 B-BF 法, 但无钙, 镁的 Hanks 溶液 pH 为 6.0, 不需另行调试。② 5N HCl 溶液。水浴内预热至 55℃ 备用。③8% Giemsa 染色液(用 pH8.0 的磷酸盐缓冲液配制)。

操作步骤: 玻片标本须在室温下保存 3—7 天。先将标本置于 0.01% 胰蛋白酶溶液中, 在 0—3℃ 的低温下处理 3 分钟, 取出立即用蒸馏水充分冲洗, 待干后将标本置于 5N HCl (55℃) 中处理 5 分钟, 然后用蒸馏水冲洗, 空气干燥, 在上述的 Giemsa 染色液中染色 10 分钟, 透明, 封片(图 2)。

我们对上述三种显示 SCD 方法的效果进行了比较, 认为 B-BF 法比 B-G 和 B-H-G 法在溶液的配制以及操作步骤方面都更为简便, 标本处理及染色时间只十几分钟重复性亦好, 尤其是不需经高温, 高浓度

溶液的处理, 排除了染色体肿胀、发毛、不易着色等弊病。此外, B-BF 法深染部分呈凸面而浅染部分呈凹面, 使得姐妹染色单体之间的差别及其之间的互换更为鲜明。这些优点都是 B-G 法和 B-H-G 法所不具备的。

B-BF 法及 B-H-G 法的原作者指出, 这两种方法显示的 SCD 与 B-G 法显示的染色, 深浅部位正好相反, 即 B-G 法的深染部分用 B-BF 及 B-H-G 法则呈浅染, 而浅染部分反而呈深染。我们认为, 无论是 SCD 还是“相反的” SCD, 只要能清晰地看出两条姐妹染色单体间的差别, 有利于准确地计数 SCE 而又简便、快速、灵敏, 均可采用。

最后应指出, 无论用哪种方法, 在操作过程中尚须注意以下几点: 第一, 玻片要特别清洗干净, 否则在热溶液中处理时, 会出现细胞脱落的现象。第二, 所用溶液均需新鲜配制, 尤其是碱性品红染色液, 配制时间过长会影响染色效果。第三, 标本在胰蛋白酶溶液中处理的时间要严格控制, 时间过长, 染色体会呈灯刷状, 甚至解体, 过短又影响分色效果。

参 考 文 献

- [1] Latt, S. A.: *Proc. Natl. Acad. Scie. (U. S. A.)*, **70**, 3395, 1973.
- [2] Perry, P. et al.: *Nature*, **251**, 156, 1974.
- [3] Korenberg, J. R. et al.: *Chromosoma (Berl.)*, **48**, 355, 1974.
- [4] Takayama, S. et al.: *ibid.*, **64**, 109, 1977.
- [5] Scheres, J. M. J. C. et al.: *Exp. Cell Res.*, **109**, 466, 1977.
- [6] 田竟生、陈采琴等: 《生物化学与生物物理进展》, 1978 年, 第 3 期, 18 页。

[本文于 1979 年 11 月 20 日收到]

磁化水处理种子的生物学效应*

赵树仁 高 侃

(辽宁师范学院生物系)

近年来, 在国内外刊物上有文献 (Barnothy, 1962; Холодов, 1965, 李国栋, 1978) 述评关于磁场的生理、生化效应问题, 但此问题至今研究得还很少。

研究证明, 某些萌发种子的幼根在磁场中表现向磁性; 某些植物的幼苗在磁场中生长速率变快, 有人报道磁场作用下能增加有丝分裂的频率, 提高根尖生长区 RNA 含量, 促进根伸长区细胞体积增大。

由于生物磁学研究的进展, 促进了磁化水在农业生产中的应用。据国内外报道, 利用磁化水浸种、灌

溉, 增产效果明显。

本试验的目的在于探讨磁化水浸种、灌溉增产效果的机理。

材料和方法

供试小麦品种为“红袖包”, 水稻为“新引 1 号”, 玉米为“旅丰一号”, 大豆是当地农家品种“青皮豆”。

* 徐爱菊、李建芝同志协助工流, 特此致谢。