

## 应用同一细胞进行核型与带型的分析方法\*

陈瑞阳 宋文芹 李秀兰

(南开大学生物系)

### THE KARYOTYPE AND BANDING PATTERN ANALYSIS USING THE SAME CELL

Chen Ruiyang Song Wenqin and Li Xiulan

(Department of Biology, Nankai University, Tianjin.)

应用同一细胞进行核型与Giemsa带型相对应的分析方法,早已在哺乳动物及人类染色体研究中普遍应用。最近有人开始将此方法应用到植物染色体研究中来,大大提高了植物染色体鉴别的可靠性。为推广此方法,现介绍如下:

#### 方 法 步 骤

1. 首先应用植物有丝分裂染色体标本制备新方法制备染色体标本。
2. 染色:以无钙、镁离子蒸馏水稀释Giemsa染液,20:1染色30分钟左右。试验证明,金属离子,特别是 $\text{Ca}^{++}$ 、 $\text{Mg}^{++}$ 等离子对Giemsa显带有明显影响,所以,在第一次核型分析染色时,应尽量消除这些金属离子的影响。我们通常采取用蒸馏水或者在自来水中加少量EDTA以整合金属离子。
3. 摄影:选取染色体分散良好处于早中期的细胞,做好标记,用油浸系物镜拍照。染色体长时间浸在香柏油中,对分带也有影响,可用水临时封片再拍照。
4. 如使用了香柏油,显微拍照后要立即用二甲苯将香柏油彻底冲洗干净,然后空气干燥。
5. 分带处理:空气干燥48小时至一周以内的标本,进行分带处理,下列条件可供参考:

\* 中国科学院科学基金资助的课题。

Projects Supported by the Science Fund of the Chinese Academy of Sciences.

C—带流程(以玉米为例):

- <1> 贮存一周以内的染色体标本, 经0.1N HCl 60℃处理6分钟左右;
- <2> 自来水冲洗3—5分钟;
- <3> 蒸馏水冲洗5分钟;
- <4> 5% Ba(OH)<sub>2</sub> 45℃处理8—10分钟;
- <5> 45—50℃水冲洗, 至Ba(OH)<sub>2</sub>完全除掉;
- <6> 2×SSC 60—66℃ 30分钟;
- <7> 蒸馏水冲洗3—5分钟;
- <8> pH6.8磷酸缓冲溶液20:1 Giemsa染色40分钟左右;
- <9> 自来水冲洗, 空气干燥。

N—带流程(以小麦为例):

- <1> 贮存一周以内的染色体标本, 经1M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 94±1℃处理8—10分钟;
- <2> 50℃左右蒸馏水冲洗;
- <3> 自来水冲洗30分钟;
- <4> pH6.8磷酸缓冲溶液20:1 Giemsa染色30—60分钟;
- <5> 冲洗: 自来水冲洗, 并使其迅速干燥。

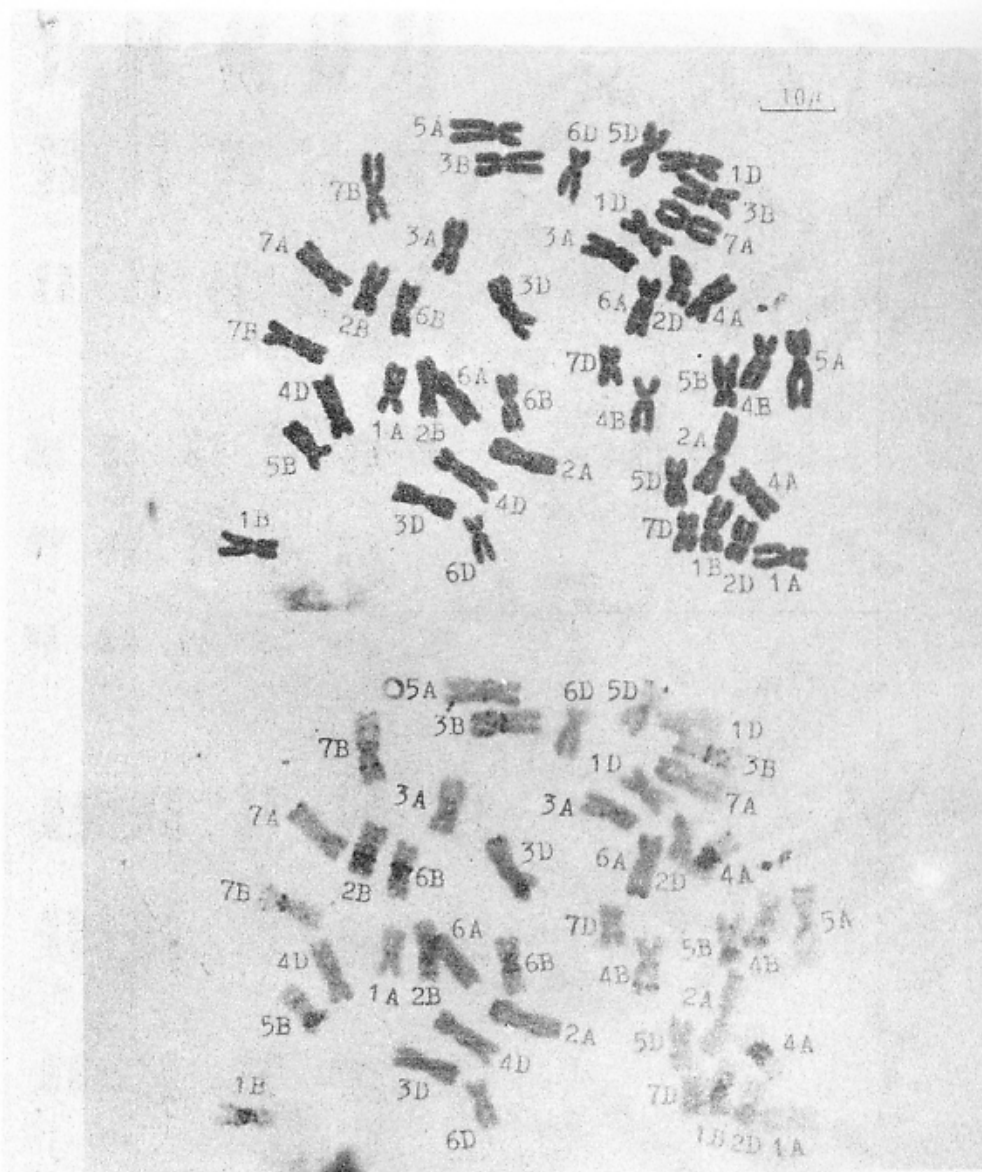
6. 带型拍照: 镜检选取核型已经拍照的细胞, 再进行带型拍照, 可以获得如图版I的结果。将每条对应的染色体做好标记, 分带处理染色体。形态轮廓变得不清, 有些不显带的染色体难识别, 采用此法, 每对同源染色体都能一一识别。

## 讨 论

此方法成功的关键, 作者认为有二方面:

1. 金属离子对显带的影响 试验表明, 溶液中的钙、镁等金属离子对显带起着不良影响。因此, 在显带前应排除这些离子, 另外, 香柏油中一些未知因素对显带亦有显著作用, 应设法减少香柏油与染色体接触时间。

2. 分带的可重复性 当前植物染色体分带的主要问题是分带的可重复率较低。而解决这一问题的关键, 作者认为在于染色体标本制备方法的改进, 去壁低渗法比通常的压片法可以提高分带的可重复性已被证明。但去壁低渗法中的火焰干燥处理, “火候”常常不容易掌握, 降低了分带的可重复性。为解决此问题, 最近作者应用蒸气干燥法代替通常所使用的酒精灯火焰干燥法, 取得了满意结果, 解决了制片时“火候”的控制问题。方法是: 在普通家庭做饭用的压力锅中加约 $\frac{1}{2}$ 水, 在电炉上煮沸, 不加砵, 让水蒸气从嘴中喷出, 用这种高温蒸气流代替酒精灯火焰干燥制片, 染色体分散良好。与酒精灯火焰干燥法无异样。此外, 因每次从压力锅嘴中喷出的气流温度(根据染色体分散程度可以选择适当气流高度, 近嘴处可达90℃, 一般在60—80℃温度处即可)都是一定的。所以制片时每片受热程度基本是一定的, 可重复的。因此, 分带可重复率高。此方法简单易行, 是值得推广的一点技术改进。



*Triticum aestivum* cv. Chinese Spring