

被证实是 DNA 的复制区^[4]。PCC 的这些形态变化,说明染色体在细胞周期中经历着连续的“凝聚” \leftrightarrow “解聚”的循环,在有丝分裂中期,染色质高度凝聚为最粗短的染色体,而在 DNA 合成期,染色体则解聚为最细长的染色质。

我们实验证实,化学细胞促融剂——国产 PEG 介导细胞融合诱发 PCC,使用简便,效果良好,性能也较稳定。但 PEG 对细胞的毒性作用却不可忽视,细胞经 PEG 处理后,死亡率可高达 30—40%,这直接影响细胞的融合率和 PCC 的诱导率。

M 期细胞和 I 期细胞的适当配比,是直接影响细胞融合率和 PCC 诱导率的另一个因素。我们所选用的两种细胞均是成纤维细胞,其形态大小、培养特性也较相似,故采用 1:1 的配比较为适宜。

细胞融合后的孵育时间也是影响 PCC 诱导率的又一个因素,这是由于 PCC 的诱导,实质上就是异相细胞在融合后的同步化过程^[5]。它是在一定的孵育时间内逐步完成的。我们实

验的结果是,细胞融合后孵育 30 分钟诱导率可达 20—25%。

我们选用染色体数目较少且易于分析的赤鹿和中国仓鼠两种细胞,证实了间期细胞 PCC 的诱发无物种特异性,这一结果与前人的研究相一致^[6]。在实际应用方面,对某些血液病患者间期细胞 PCC 的观察分析,已可为预测其病程的现状和发展提供依据;同时也为研究某些理化因子对间期细胞染色体的效应提供条件。

参 考 文 献

- [1] 叶秀珍等 (1980) 实验生物学报 13 (2): 203—217.
- [2] Sperling, K. and Rao, P. N., 1974. *Hu-mangenetik*, 23: 235—258.
- [3] Schor, S. L., Johnson, R. T., and Waldren, C. A., 1975. *J. Cell Sci.* 17: 539—566
- [4] Rohme, D., 1975. *Hereditas*, 80: 145—149.
- [5] Obara, Y. et al., 1973. *J. Cell Biol.* 58: 608—617.
- [6] Ikeuchi, T., and Sandberg, A. A. 1970. *J. Natl. Cancer Inst.* 45: 951—963.

初生小鼠脾脏细胞培养制备 SCE

虞世嘉

(江西医学院)

近年来,一些实验室多采用外周血、骨髓和睾丸等为材料来制备 SCE^[1-5],尚未见到利用淋巴器官内的淋巴细胞来制备 SCE 的报道。小鼠是生物学、医学等学科研究中最常用的实验动物之一,作者利用初生小鼠的脾脏细胞体外培养制备 SCE,取得了成功。

生后 3—5 天的杂种小白鼠幼鼠,经体表消毒后剖腹取脾脏。除去结缔组织,用 Hank's 液洗去表面血污,移置于玻璃细胞匀浆器内,加少量培养液(RPMI 1640,内含 10%小牛血清,双抗,调 pH7.0—7.2),轻轻地将组织研碎,静置 5 分钟,在细胞团块自然沉降后吸取上层

细胞悬液,计算分离的活细胞数,细胞密度调整到 10^6 个/毫升培养液。用上述密度的细胞悬液 3 毫升左右,置于 10 毫升的小玻璃瓶内,加 PHA (广州医工所产,最终浓度 200 微克/毫升培养液), 37°C 培养 24 小时后,加 BUdR (最终浓度 20 微克/毫升培养液),避光培养 48 小时。在终止培养前 4 小时加秋水仙素 (最终浓度 0.02 微克/毫升培养液)。终止培养,收获细胞,低渗、固定、滴片等操作过程按常规进行;制成的染色体标本用简化紫外线—Giemsa 法染色^[6]。

作者共培养了 8 个初生小鼠脾脏样品,每次都获得了一定数量的染色单体差别染色清晰

的分裂相。本方法为直接检测理化因素对子代的遗传效应提供了一种手段。

参 考 文 献

- [1] Perry, P. et al., 1975, *Nature*. 258:121.
[2] Kahati, S. et al., 1978, *Cancer Res.*38;

918.

- [3] Chaganti, R. S., et al., 1974, *Proc. Nat. Acad. Sci USA* 71:4508.
[4] Shiraishi et al., 1976, *Cytogenet Cell Genet.* 17: 163.
[5] 吕群等: 1981年 科学通报 26:1327.
[6] 虞世嘉: 1981年 江西医药 4:49.

超薄切片染色后一种简易快速的洗涤法

林 亚 康

(杭州大学生物系)

超薄切片在电镜观察之前染色这一关是比较麻烦,也是比较重要的一关。现在 LKB 公司虽然已经生产出一种超薄切片自动染色器,每次同时能染色 25 个铜网,给超薄切片染色带来了很大的方便。但是该仪器价格昂贵(近一万美元),很不经济。因此目前大多数工作者仍以传统的方法进行染色,即液滴染色法。但用这种传统的方法染色是很麻烦的,尤其是在染色后进行洗涤时更令人厌烦,染色后的切片经重蒸馏水的多次洗涤后,必须用滤纸把镊子和铜网上的水分吸干,否则镊子就会吸附铜网,易造成切片的污染。并且这种方法费时费力,特别是遇十几个甚至更多的铜网一起染色时,由于洗涤的速度慢,就使同批切片中前后染色的时间相差很大,染色效果不一样。为了减少这种时差,达到较均一的染色效果,本人在工作中简易了这种洗涤法,洗涤既快又好,且不易造成污染。具体方法如下:

一、准备好两只清洁的小烧杯(50 毫升);两只培养皿(直径为 10 厘米);定性滤纸(直径为 9 厘米)。将两只小烧杯分别盛满重蒸馏水;在一只培养皿中放一张滤纸,先用蒸馏水洗一下,然后盛满重蒸馏水(不宜太满);在另一只培养皿中放置 2—3 张干燥的滤纸待用。

二、当切片用醋酸铀(70%酒精或 70%丙酮饱和液)在室温(20—25℃)下染色 30—40 分

钟后,用镊子夹住铜网边,先在两只小烧杯中快速洗涤几次(图 1, 2),然后将切片面朝上放入培养皿中水下的滤纸上(图 3),注意铜网必须在接触滤纸时镊子才能放松,镊子切勿早松开,否则易使铜网漂浮。当一批十几个或二十几个的铜网经上述方法全部进入培养皿水下的滤纸上时,就可用镊子夹住滤纸的边缘,按 30 度的只斜面慢慢往上提(图 4),离开水面,置于另一盛有干燥滤纸的培养皿中(图 5),这样铜网上的水分很快就会被滤纸所吸干,然后可进行下一步的染色,即进入柠檬酸铅染液。在室温下用柠檬酸铅染色 15 分钟以后,再用上述洗涤法将切片上的柠檬酸铅余液洗去。铜网经干燥后置铜网盒,待电镜观察。

采用这种洗涤法,简单易行,它既省去了用滤纸吸镊子上水分的这一步骤,又消除了镊子吸附铜网的现象,这样就可以很快地将二十几个铜网在几分钟内洗涤完毕,并且当铜网置于水中时,还有一个继续洗涤的作用。

此法适用于用液滴法染色的切片,也适用于用多孔架染色法染色的切片。切片也可直接置于铜网盒中加染液染色,然后用此法洗涤。

作者自从采用了这种洗涤后,用 Epon 812 包埋所制的超薄切片很少出现有污染的现象,得到了良好的较均一的染色效果。但是,采用