

参 考 文 献

- [1] 陈瑞铭、朱德厚、叶秀珍、沈鼎武、陆荣华, 1979, 中国科学, 12:1225—1233.
- [2] McBride, O. W. and H. L. Ozer, 1973. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 70:1258—1262.
- [3] Willecke, K. and F. H. Ruddle, 1975. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 72:1792—1796.
- [4] Spandidos, D. A. and L. Simonovitch, 1977. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 74:3480—3484.
- [5] Sabourin, D. J. and R. L. Davidson, 1979. *Somatic Cell Genetics*, 5:159—174.
- [6] Burkholder, G. D. and B. B. Mukherjee, 1970. *Exp. cell Res.* 61:413—418.
- [7] Sekiquchi, T. et al., 1973. *Exp. Cell Res.* 80:223—236.
- [8] Sekiquchi, T. et al., 1975. *Exp. Cell Res.* 94:327—338.

人 体 染 色 体 的 扫 描 电 镜 观 察

赵寿元 马正蓉 丁 斐

(复旦大学遗传学研究所)

扫描电镜是近十年来迅速发展的一项大型精密电子光学分析仪器,我国于一九七三年开始试制,一九七五年有成品出厂。目前在生物学研究中,扫描电镜已广泛应用于观察细胞表面结构,结合冰冻蚀刻观察细胞内部结构的立体构型,以及用于组织化学研究^[1-4]。一九七一年, Golomb 等^[5]第一次用扫描电镜研究人体染色体的立体构型以来,这方面的报道还不多。我们用扫描电镜比较观察了离体培养的人体外周血白细胞正常染色体和辐射诱发的畸变染色体。

按照过去报道的方法^[6]作人体外周血培养。RPMI 1640 培养液 4 毫升加小牛血清 1 毫升,加 PHA 和青、链霉素,滴入正常人体静脉血 0.4 毫升。37℃ 培养 72 小时,加秋水仙素后继续培养 4 小时。0.025M KCl 溶液低渗 20 分钟,甲醇:冰醋酸(3:1)固定两次,空气干燥法制片。这样制备的染色体标本作为正常对照。

另抽取正常人体静脉血 10 毫升,加肝素抗凝,置灭菌离心管中,用钴⁶⁰γ射线照射,剂量率为每分钟 146.8 仑琴,总剂量为 200 拉

特。然后按上述方法制备染色体标本,用以观察畸变的染色体。

制备好的染色体标本放在镀膜机的真空罩里,抽真空到 6×10^{-5} 托时,喷涂一层薄的金膜,镀膜速度约每分钟 60 转,在一分钟内镀毕,金膜的厚度为 300 Å—1000 Å。染色体标本经真空喷涂金膜后,在扫描电镜的荧光屏上观察,摄影。

一、扫描电镜的景深大,比光学显微镜的景深大几百倍,因而可以获得清晰的三维图象。图 1 是人体外周血白细胞有丝分裂中期的染色体照片,具有明显的立体感和真实感。

二、扫描电镜的标本制备比较简单,用光学显微镜的标本经真空喷涂后即可观察,不象透射式电镜需要作超薄切片。此外,放大倍数在很宽的范围内连续可调,一般在 20 倍到几十万倍乃至 20 万倍;这样,既可观察标本的全貌,又能观察标本的局部细节。图 2 是正常的单条染色体,图 3 是染色单体断裂,图 4 是显示了经 γ 射线辐射引起的双着丝点染色体。同光学显微镜观察相比,这些畸变图象的分辨率较高。

三、本实验所用的扫描电镜观察的标本未经临界点干燥处理,也未用锇酸固定,简单易行,今后可用于分析染色体畸变。

在研究染色体的精细结构时,真空喷涂的金膜应减薄至150Å左右,即可显示出染色体纤丝等结构^[7]。

参 考 文 献

- [1] Tanaka, K., 1972, *Die Naturwissenschaften* 59:77.
- [2] Makita, T., 1973, *Acta Histochem. Cytochem.*, 6:11—20.
- [3] Golomb, H. M., R. Braylan, C. Reese, D. Varikojis, R. K. Brynes, & S. Yachnin, 1975, *Acta Haematol. (Basel)* 54:106—114.
- [4] Golomb, H. M., R. Braylan, & A. Polliack, 1975, *Br. J. Haematol.* 29:455—460.
- [5] Golomb, H. M., & G. F. Bahr, 1971, *Science* 171:1024—1026.
- [6] 马正蓉、丁斐、孙理炎, 1979, *上海医学*, 4:8—11.
- [7] Golomb, H. M. & G. F. Bahr, 1974, *Exp. Cell Res.*, 84:79—87.

增加动物骨髓细胞有丝分裂相的新方法*

项 维 吕 群 江绍慧 蒋秀蓉 刘祖洞

(复旦大学遗传学研究所)

在细胞遗传学的研究中,常常需要获得量多而清晰的分裂图象,目前多取用离体培养的外周血和成纤维细胞。细胞培养要求较好的实验条件,而且离体实验又往往不能完全反映细胞在体内的真实状况,因此,应用这种方法不一定能得到满意的结果。直接观察骨髓细胞可以克服上述缺点。但问题在于往往很难找到足够数量的分裂中期相。Cole和Leavens⁽¹⁾在1971年曾提到用酵母刺激动物造血组织,增加有丝分裂的可能性。最近, Elder和Lea⁽²⁾使用酵母制剂刺激动物骨髓细胞,得到了满意的结果。我们以类似的方法,对小鼠、大鼠、中华大蟾蜍、金黄地鼠等实验动物进行实验,摸索其适合的实验条件。

材 料 与 方 法

1. 实验动物

供试动物有小鼠、大鼠、中华大蟾蜍和金黄地鼠等。

2. 酵母悬浮液制备

配制10%的酵母液:称取干酵母粉(上海酵母厂)

2.5克;葡萄糖5.5克;加入40℃温水25毫升;充分混匀,置40℃温箱中保温1.5—2小时,待液体表面有少量气泡即可使用。

用同法配制14%和6%的酵母液。

3. 处理及制片

以小鼠为例,按体重每25克皮下注射10%酵母液0.3毫升。24小时后注射秋水仙素,体重每25克注射0.25毫升(浓度为40微克/毫升)1小时(或40分钟)后杀死动物,迅速取出大腿骨,用生理盐水洗出骨髓细胞,待自然沉降后,吸出细胞悬液,去碎骨,以1000转/分离心7—10分钟。弃去上清液,加以0.075MKCl低渗溶液,并在37℃—40℃保温30分钟后,再离心,弃去上清液,用固定液(3份甲醇:1份冰醋酸)固定过夜。空气干燥法制片,用Giemsa染色。

对照组用0.9%生理盐水代替酵母液,其它处理同实验组。

实 验 结 果

仍以小鼠为例。

1. 平均有丝分裂指数 每只动物观察10

* 承潘家瑾同志协助摄影,特此致谢。