

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。

张片子, 每张片子随机观察 1,000 个细胞, 共观察 10,000 个细胞, 其结果用下列公式计算:

$$\text{平均有丝分裂指数} = \frac{\text{有丝分裂中期细胞数}}{\text{观察细胞总数}} \times 100\%$$

结果表明实验组与对照组相差悬殊(表1), 最高可达 10 倍(图 1—2)。其它动物也得到良好结果, 大鼠平均指数可提高 4 倍左右(图 3—4), 蟾蜍(未冬眠的)可提高 11 倍左右(图 5—6), 金黄地鼠可提高约 3 倍(图 7—8)。

表 1 四种实验动物经 10% 酵母制剂处理后骨髓细胞的平均有丝分裂指数

动物	动物数(只)		平均有丝分裂指数(%)	
	对照	实验	对照	实验
小鼠	6	12	0.20	1.60
大鼠	2	3	0.45	2.05
蟾蜍	12	6	0.12	1.47
地鼠	4	4	0.78	2.90

2. 不同浓度酵母液的作用 不同浓度酵母液(14%; 10%; 6%) 都能刺激骨髓细胞有丝分裂, 但以 10% 浓度为最好, 用其它浓度得到的平均有丝分裂指数只有 0.7% 左右。

讨 论

用酵母液皮下注射小鼠后, 取骨髓制片, 观察骨髓细胞的分裂相, 发现中期图象分散而清晰; 处理组的中期细胞比对照组有显著的增加, 平均有丝分裂指数最高竟相差 10 倍。酵母的浓度以 10% 为最好, 过高或过低, 效果都不理想。连续二次或三次注射(每次间隔 24 小时), 效果不及一次好; 三次注射的小鼠毛色光泽暗淡, 可能是剂量过大引起的生理反应。这些都与 Elder 等⁽²⁾的报道相似。

对大白鼠, 中华大蟾蜍, 金黄地鼠等进行试验, 得到了类似的结果, 平均指数比对照组增加 3—11 倍。增加数可因动物不同而不同, 而且同种动物重复试验的数据也不完全一致, 这可能与供试动物的年龄, 生理状况及饲养条件等因素有关。因此实验时, 应尽量选用

年龄、体重、饲养条件相同的动物。

实验证明, 用酵母液刺激动物骨髓细胞分裂, 不但是一种简便易行的有效方法, 而且在上述实验的观察中, 未发现染色体断裂等畸变现象。这表明酵母本身对染色体无损伤作用, 只是刺激骨髓细胞分裂, 可增加有丝分裂中期相的数目。鉴于观察体内骨髓细胞在很多方面优于离体培养的细胞, 因此, 这种方法可广泛应用于细胞遗传学研究, 尤其是在动物的细胞分类学研究上, 更有广阔前景。此外, 因此方法可较直接地反映各种化学物质, 致癌物质及各种射线的诱变作用, 并可用来检测环境中污染因子的诱变效应。

参 考 文 献

- [1] Cole, C. J. and Leavens, C. R. (1971) Chromosome preparation of amphibians and reptiles: Improved technique. *Herpetol. Rev.* 3:102.
- [2] Elder, F. B. and Lee, M. R. Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigation (preprint).

图 版 说 明

- 图 1 酵母制剂处理的小鼠骨髓细胞分裂相 $\times 420$
- 图 2 小白鼠骨髓细胞染色体(图 1 的放大) $\times 1,145$
- 图 3 酵母制剂处理的大白鼠骨髓细胞分裂相 $\times 400$
- 图 4 大白鼠骨髓细胞染色体(图 3 的放大) $\times 1,100$
- 图 5 酵母制剂处理的蟾蜍骨髓细胞分裂相 $\times 450$
- 图 6 蟾蜍骨髓细胞染色体(图 5 的放大) $\times 1,000$
- 图 7 酵母制剂处理的金黄地鼠骨髓细胞分裂相 $\times 420$
- 图 8 金黄地鼠骨髓细胞染色体(图 7 的放大) $\times 1,100$