

用戊二醛—锇酸固定的缺硼核仁中可看到丝状成分似乎隐约可显,但难以与粒状成分相区分,整个核仁呈紧密结构,染色粒子小而密度大,核仁组织中心伸向外边,萎缩呈半圆形(图5)。而用磷钨酸染色的同类型的核仁中,尽管丝状成分的两股“绳子”扭得比较紧,似乎收缩、变粗,而且集中在核仁的中间位置上,与粒状成分有明显的区分,与戊二醛—锇酸固定者相比,粒子显得疏而粗(图版图6)。

讨 论

用电子显微镜探索核仁的细微结构随着标本制备技术的改进而进展,用醛类固定,证明核仁中染色质的结构是分散的,用单一的锇酸固定以来也没有提供令人满意的效果,近年来采用戊二醛—锇酸的结合使用得到了比较好的效果^[3]。因此,直到现在仍被作为一种常规的标准方法来用。用此法固定的图像中所显示出的核仁丝状成分细而长,粒子小而密,表明用它固定后所丢失的物质少,对于保存核酸、蛋白物质的范围可能比较宽广,因此,更能够反应生物标本的真实情况,无疑对于研究植物细胞核、核仁的细微结构和核物质的变化是非常有益的。但是,对于我们实验中用于研究黄瓜根尖细胞核仁中丝状成分时显然不够理想,因为用此法固定的材料中,核仁染色较深,丝状

成分和粒状成分细而致密,它们之间的界限很难区分,致使丝状成分的显现不够明显、突出,造成了观察和量度方面的某些困难,我们采用的仅用戊二醛固定,脱水时用磷钨酸染色的方法,使核仁中丝状成分显得粗而染色深,粒状成分的粒子显得大而少,因此,背景显得染色浅。显然,用这种方法的结果可能是由于固定不够而丢失的物质比较多或者保存核酸、蛋白物质的范围比较狭窄,也可能是脱水时某些固未固定之物质进一步凝聚所造成。我们正是利用这一点使丝状成分在比较浅的背景下更加突出地显示其面貌,从而更加有利于实验中的观察和量度。

参 考 文 献

- [1] Hoagland, D. R. and D. L. Arno. 1938. The water-culture method for growing plants without soil. Calif. Agric. Exp. Sta. Circ. 347: 39.
- [2] Lafontaine, J. G. 1968. Structural components of the nucleus in mitotic plant cells. In "the nucleus" (A. J. Dalton and F. Haugenau, eds). pp 151—169. Academic Press, New York.
- [3] Marinozzi, V. 1963. *J. Roy. Microscop. Soc.* (3). 81: 141—154.
- [4] Sun, C. N., 1966. *Exp. Cell Res.* 25: 213—215.

介绍一种新的植物染色体染色的方法*

涂 传 馨

(武汉大学 生物系)

在植物细胞遗传学研究中,体细胞染色体的鉴别,主要是以其全长、臂长、着丝点位置和特殊的结构如随体等为依据的,近年来用有荧光性的喹吖啶(quinacrine-fluorescent)或 Giemsa 染色的分带技术进行研究,可以在很多植物中鉴别单个的染色体,但遗憾的是,荧光性喹吖啶或 Giemsa 分带程序比起常规的

Feulgen 或醋酸地衣红(aceto-orcein)、醋酸洋红(aceto-carmin)等染色方法来要费时并且困难得多。作者在植物染色体的分带的研究过程中,为了寻找一种简易的染色方法,采用了多种染色剂染色并进行了比较,其中采用了改良

* 本文承李晓迎同志协助摄影,特此致谢。

的石炭酸品红(carbol-fuchsin)染色剂,对蚕豆和洋葱的根尖及丽藻等植物进行染色,效果很好,并有一定区分染色的作用,证明改良的石炭酸品红是一种优良的核染色剂。特别是作者在试验中又采用了Wright氏染色剂进行染色,区分染色作用的效果更佳。现以蚕豆根尖分生组织染色体的制备为例作如下简述。

材料与 方法

(一) Wright 氏染色剂配方:

Wright 染料粉	0.1克
甲醇(无丙酮存在)	7.5 毫升

二者混合 1—2 天后,使染料粉充分溶于甲醇中,再进行过滤才可应用,染色液的保存也无特殊要求,配成后可装入棕色滴瓶中置实验室备用。

(二) 染色操作步骤:

1. 前处理:在上午 9 时左右剪下蚕豆根尖 1—2 毫米置于饱和的对二氯苯溶液中,在 5°C 以下的条件处理 3 小时。

2. 固定:倒掉饱和的对二氯苯溶液,蒸馏水冲洗数次,用吸水纸将水分吸干,再加入无水酒精:冰醋酸(3:1)固定液固定 2—4 小时。

3. 解离:倒掉固定液,用蒸馏水冲洗数次,吸干水分,加入 1N 盐酸:45%醋酸(2:1)溶液,在 20—25°C 条件下解离 10—15 分钟。

4. 染色:倒掉解离溶液,用 50%酒精洗一次后,再用蒸馏水冲洗,吸干水分,加入配制好的 Wright 氏染色剂,使全部蚕豆根尖浸泡于溶液中,时间为 1—2 小时。

5. 压片:倒掉染液用 45%醋酸洗一次,然后将材料置于载玻片上,并滴上一滴 45%醋酸,用镊子将根尖捣碎使其分散于 45%醋酸溶液中,加上盖玻片,用镊子尖端或解剖针轻轻敲打,使细胞散开,盖上吸水纸,左手按住吸水纸并固定其下的盖片,勿使其移动,用右手拇指或铅笔橡皮头端对准根尖部位适当施加压力,使材料压成一均匀薄片。为了增强染色效果,在压片前及压片过程中在酒精灯火焰上微微加热数次。

6. 脱水及封片:将所压玻片置冰冻致冷器上冰冻后,揭去盖片,再顺序用 95%、100%酒精脱水,置二甲苯中透明 1 小时,用中性树脂封片。

采用新鲜蚕豆根尖,省去 1, 2 步骤,从解离开

始顺序制片亦可。

结 果

将上述所制蚕豆根尖标本置显微镜下观察,选择染色体分散良好的细胞在 100×油镜下进行显微照相。蚕豆根尖分生组织经 Wright 氏染色剂染色后,虽细胞质及细胞核均染上不同程度的红色(粉红或暗红),但染色体能清晰可见,着丝点、随体、次缢痕及姐妹染色单体均能分辨清楚,有可能成为研究植物染色体分带的一个新途径(图 1)。此种方法不但快速、简单、易行,而且效果也为其他染色剂(如石炭酸品红)染色要好得多(图 2)。但应用此法所得的植物染色体带纹应属何种带型及此种染色法的应用范围有多广,则有待于进一步研究。



图 1 用 Wright 氏染色剂染色的蚕豆根尖染色体及其带纹



图 2 用碳酸品红染色剂染色的蚕豆根尖染色体及其带纹。

(下转第 31 页)

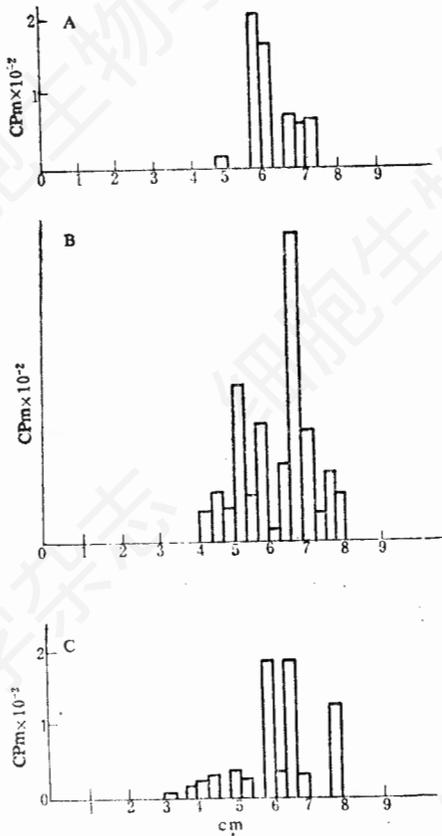


图4 翻译产物的放射活性(三次实验结果)

讨 论

小牛胸腺含有大量的DNA,而RNA含量相对地少,mRNA则更少。因此采用从胸腺总RNA中纯化mRNA的方法则提取损失很大。本实验用制备核糖体RNA,再进一步提取mRNA,可大大减少mRNA的损失。本实验用寡(dT)纤维素柱和Sephrose 4B柱层析纯化mRNA,可达到较满意的效果。参考Rosen等方法^[19]mRNA量在4—5mg以上可得较纯的mRNA,10mg以上则达不到纯化目的。经纯化的mRNA进行尿素-琼脂糖凝胶电泳^[19],

可见10条带。由于含量及技术上的困难,尚未对每条带进行翻译活性测定。

本实验翻译产物电泳结果与Freire等报道相符^[10,11]。其性质尚有待进一步阐明。

参 考 文 献

- [1] 刘士廉等,1978,生物化学与生物物理学报,10: 413.
- [2] 金以丰等,1980,生物化学与生物物理学报,12(2): 133.
- [3] Goldstein, A. L. et al., 1977, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74: 725.
- [4] Low, T. L. K., 1979, *J. Biol. Chem.*, 254: 981.
- [5] Kook, A. I., 1975, *Cell Immunol.* 19: 151.
- [6] Schesinger, D. H., 1975, *Cell* 5: 361.
- [7] Bach, J. F. et al., 1975, *The Biological Activity of Thymic Hormones*, 145.
- [8] Goldstein, A. L. et al., 1972, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69: 1800.
- [9] 刘培楠等,1983,中华微生物免疫学杂志,3(3) 137.
- [10] Freire, M. et al., 1978, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75(12): 6007.
- [11] Freire, M. et al., 1982, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78(1): 192.
- [12] Michael, E. et al., 1974, *Eur. J. Biochem.* 43: 549.
- [13] Aviv, H. and Leder, P., 1972, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 69(6): 1408.
- [14] 上海实验生物所三室,1977,生物化学与生物物理进展,第四期。
- [15] Jeffrey, M. et al., 1975, *Biochemistry* 14(1): 69.
- [16] Roberts, B. E. et al., 1973, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 70: 2330.
- [17] Marcus, A. et al., 1974, *Nucleic Acids. Res.* 1: 1385.
- [18] Weber, K. and Osborn, M., 1969 *J. Biol. Chem.* 244: 4406.
- [19] Rosen, I. M. et al., 1980, *Laboratory Methods Manual for Hormone Action and Molecular Endocrinology*, 4th ed. Chap 4: P.13.

(上接第34页)

参 考 文 献

- [1] Schlarbaum, S. E. and Tsuchiya, F., 1981

The Journal of Heredity. 72(1): 62--63.

- [2] Pathak, S., 1979 *J. Reprod. Med.* 17(1): 25--26.