

一种观察贝类染色体的制片法

孙 振 兴

(山东省水产学校,烟台 264000)

摘要 将贝类的担轮幼虫或成贝鳃组织经秋水仙素处理、KCl 低渗作用、卡诺氏液固定后得到的细胞悬浊液滴片,经 35—40℃ 电热干燥,最后用吉母萨染料染色,即可得到清晰的染色体标本。

观察贝类染色体,确定染色体的数目及其组型,对研究贝类的细胞遗传学、遗传育种学都是不可缺少的重要环节。用低渗处理、空气干燥法制作鱼类染色体标本,国内外已有若干报道^[1,2]。但贝类方面,国内已发表的有关贝类染色体的研究,均是用卵或早期胚胎以压片法观察染色体^[3,4]。本文采用一种利用担轮幼虫或成贝鳃组织、经处理后用电热干燥法制作贝类染色体标本的方法,现介绍如下。

(一) 用孵化的担轮幼虫制片

1. 秋水仙素 (colchicine) 处理 将从培养容器中取样采集到的孵化担轮幼虫,与海水一起装入 10—20 ml 的采样瓶中,滴入秋水仙素海水溶液并调至最终浓度为 0.1%,然后静置约 2 小时。

2. 低渗处理 幼虫沉淀后弃去上清液,加入数 ml 0.075 mol/L 的 KCl 液(1ml 幼虫加 9 ml KCl);待幼虫完全沉淀后,弃去上清液,再次更换数 ml 新的 0.075 mol/L KCl 液,然后静置约 1 小时。

3. 固定 弃去 KCl 上清液,先加入数 ml 卡诺氏 (carnoy) 液(纯酒精:醋酸=3:1)予固定 15 分钟后,再换以新的卡诺氏液,放入 -18℃ 低温冰箱中充分固定两小时以上,即可使用。

4. 制备细胞悬浊液 将卡诺氏液固定的样品滴入试管中,弃去上清液,然后加一滴 50% 的醋酸,用吸管在试管中缓慢搅动,使幼虫的细

胞呈均匀悬浊状。

5. 电热干燥 将载玻片放在 35—40℃ 的平板式恒温电热器上使其微热,再把一滴细胞悬浊液滴到经预热的载玻片上,使其均匀扩散并干燥。

6. 染色 用 20% 的吉母萨 (giemsa) 染料 (pH 调至 6.4) 染色 20 分钟,水洗晾干之后即可用于观察计数。

(二) 用成贝的鳃组织制片 将秋水仙素按 5 $\mu\text{g/g}$ (成贝体重) 的剂量,用 0.5 ml 人工海水溶解后,注射到成贝肌肉内。将成贝放入水槽中静置 10—15 小时,然后剪下其鳃组织,用 0.1% 的胰蛋白酶 (trypsin) 处理 10 分钟,再用 0.075 mol/L KCl 液低渗处理 40—60 分钟,最后用卡诺氏液充分固定。

制片时,将经固定的鳃组织和几滴 50% 的醋酸液共置于表面皿内,用手术刀片将其轻轻捣碎使细胞呈悬浊状,再滴到经预热的载玻片上,干燥后用吉母萨液染色即成。

(三) 讨论 秋水仙素浓度过低,难以获得较多的中期分裂相;秋水仙素浓度过高,会引起染色体的收缩。我们曾试用过浓度为 0.05% 和 0.2% 的秋水仙素,但从制片效果看,仍以 0.1% 的浓度为宜。

低渗处理是使细胞膨胀,染色体分散,减少或避免染色体在细胞内的重叠现象,便于观察计数。低渗液除用 KCl 外,还可用 25% 的稀释海水,但后者细胞膨胀程度差,染色体重叠现

象严重。另一方面,经 KCl 处理后的细胞较易破裂,导致染色体缺失,因此低渗处理的时间应当控制,不宜过长。

卡诺氏液固定后,细胞容易互相粘着成饼状,因此每个采样瓶装入的幼虫数量不宜过多,以免堆积在瓶底互相粘着。

制片时用火焰干燥法^[4,5],其温度难以掌握,往往由于温度过高引起染色体收缩。空气

干燥法^[5],则往往滴下去的细胞悬浊液不易迅速扩散,染色体重叠较多,不便于观察。本法由于是将载玻片提前预热,细胞悬浊液滴片后可迅速扩散,制作的染色体标本效果良好。

参 考 文 献

- [1] 罗俊烈等 1986 胡子鲶染色体组型的研究 水产学报 10(4): 441—446。
- [2] 姜卫国等 1983 合浦珠母贝、长耳珠母贝和大珠母贝种间人工杂交的研究 II,受精过程和杂交后代的染色体观察 热带海洋 2(4): 316—320。
- [3] —— 1986 珍珠贝科珠母贝属六种珠母贝染色体组型的研究 贝类学论文集(第二辑) 科学出版社 53—64。
- [4] 藤野和男 1981 アワセの遺伝・育種学的研究の現状 海洋科学 13(1): 42—51。
- [5] Arai K. et al. 1984 Gynogenesis with Ultraviolet Ray Irradiated Sperm in the Pacific Abalone Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 50(12): 2019—2023。
- [6] Yamazaki F. et al. 1981 The Chopping Method for Obtaining Permanent Chromosome Preparation from Embryos of Teleost Fishes. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 47(7): 963。

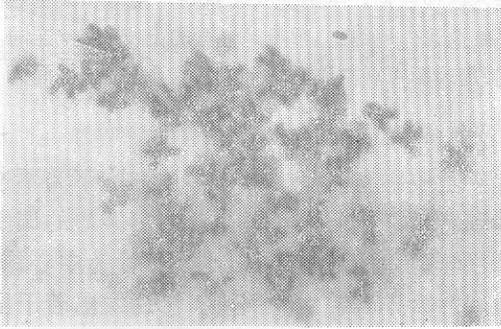


图1 用拒轮幼虫制片观察到的盘胞三倍体的染色体像 ($3n = 54$)

介绍一种小鼠剃毛方法

王兴林 高良恕

(解放军总医院理疗科,北京,100853)

在微生物,免疫学及其它试验中,经常需要去除小鼠身上的软毛,用于实验研究。目前采用的小鼠去毛方法为剪除法及脱毛剂脱毛。这两种方法不仅麻烦,易于造成小鼠皮肤损伤,而且去毛不干净。为此我们采用了一种电推剪与电动剃须刀的剃毛方法,可避免上述缺点。具有简单,方便,不需用麻醉剂及剃毛干净等优点,现介绍如下。

用手轻提小鼠尾巴,放在小鼠肢爪能够抓住的金属网上,向后轻拉鼠尾。先用电推剪从后往前,逆毛生长剪去实验部位的长毛。剪短

后再用电须刀由后往前反复剃去残留的软毛,直到小鼠皮肤的软毛全部剃干净为止。正常小鼠皮肤呈淡红色较滋润。注意在剃毛时不要用力太大,动作要轻。用此方法剃出的小鼠背部无毛区,成功率至少在95%以上。采用此方法用于光免疫学试验,共用小鼠约600只,除4只不慎用电推剪剪伤皮肤,5只用电须刀反复在皮肤摩擦次数过多,皮肤略有渗血外,其余均为无损伤性无毛区。此方法用于其它动物剃毛如兔耳毛亦令人满意。