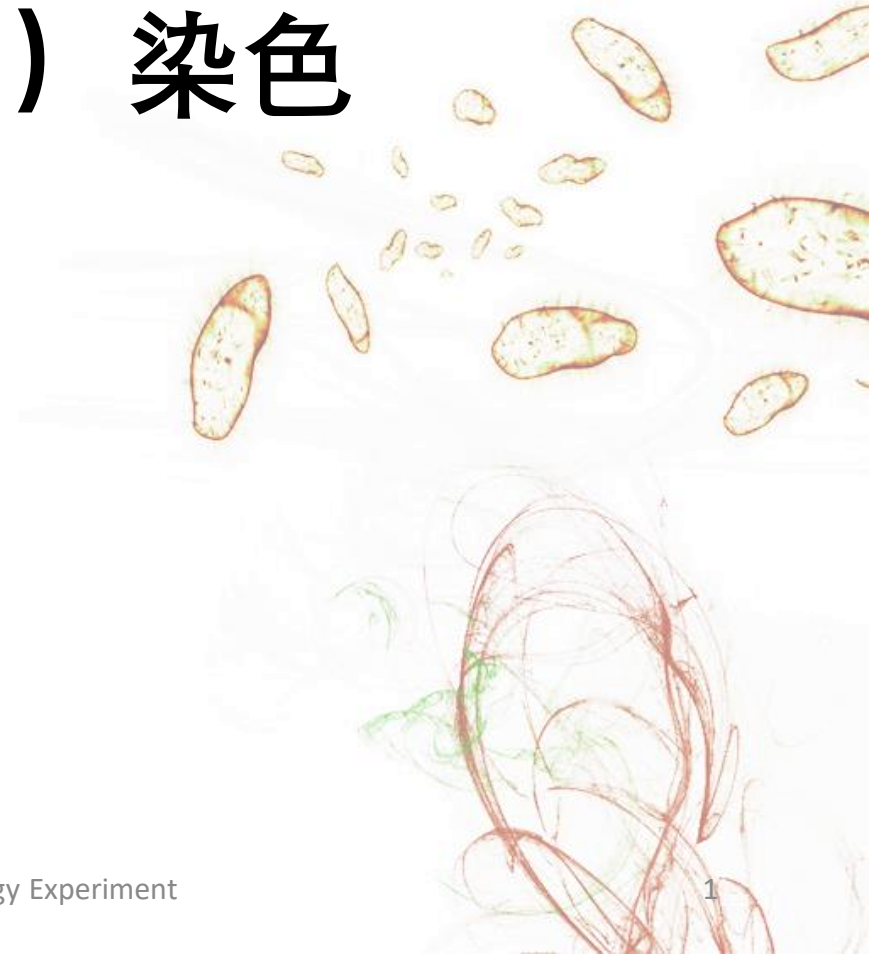




实验二

福尔根 (Feulgen) 染色





实验目的

- 1、以Feulgen染色法为例学习细胞化学方法检测细胞核DNA的原理和方法；
- 2、观察DNA在细胞内的分布。



背景和故事

什么是细胞化学？

细胞化学是指在保持细胞原有形态结构的基础上，利用物理的、化学的或者免疫学的方法，原位显示某种物质的分布和含量，从而研究与其相关的机能活动的科学。



故事：DNA的发现与认识

困惑
1850-1900

1948年
紫鸭齿草花粉母细胞
染色体

1856-1864年
豌豆杂交实验
孟德尔定律
1900年再发现

1900年-
染色体的行为
减数分裂

染色体的本质和作用是什么？

减数分裂与孟德尔分离相一致
“遗传因子”带在染色体上吗？

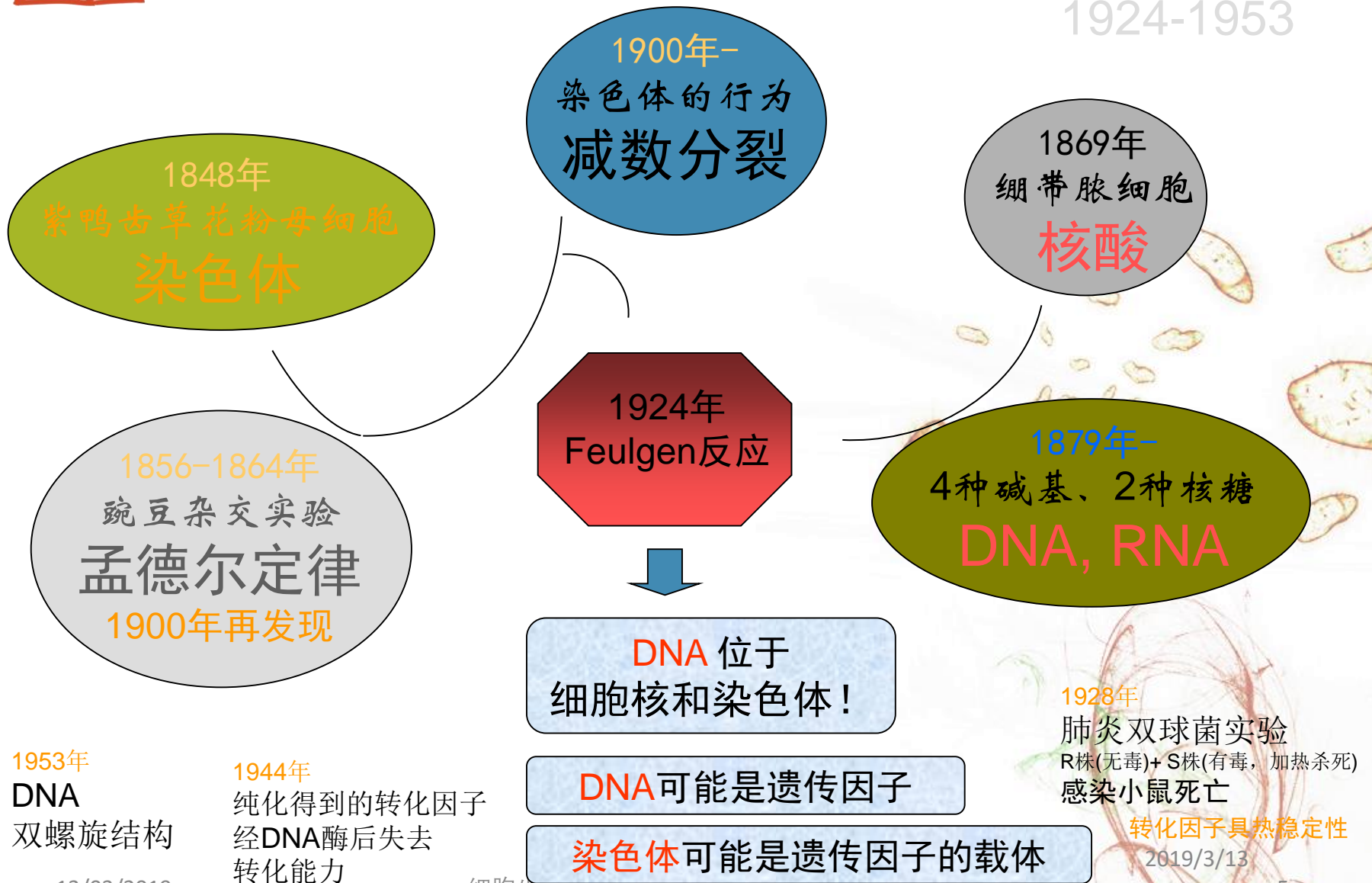
“遗传因子”的本质又是什么呢？



故事：DNA的发现与认识

解困

1924-1953



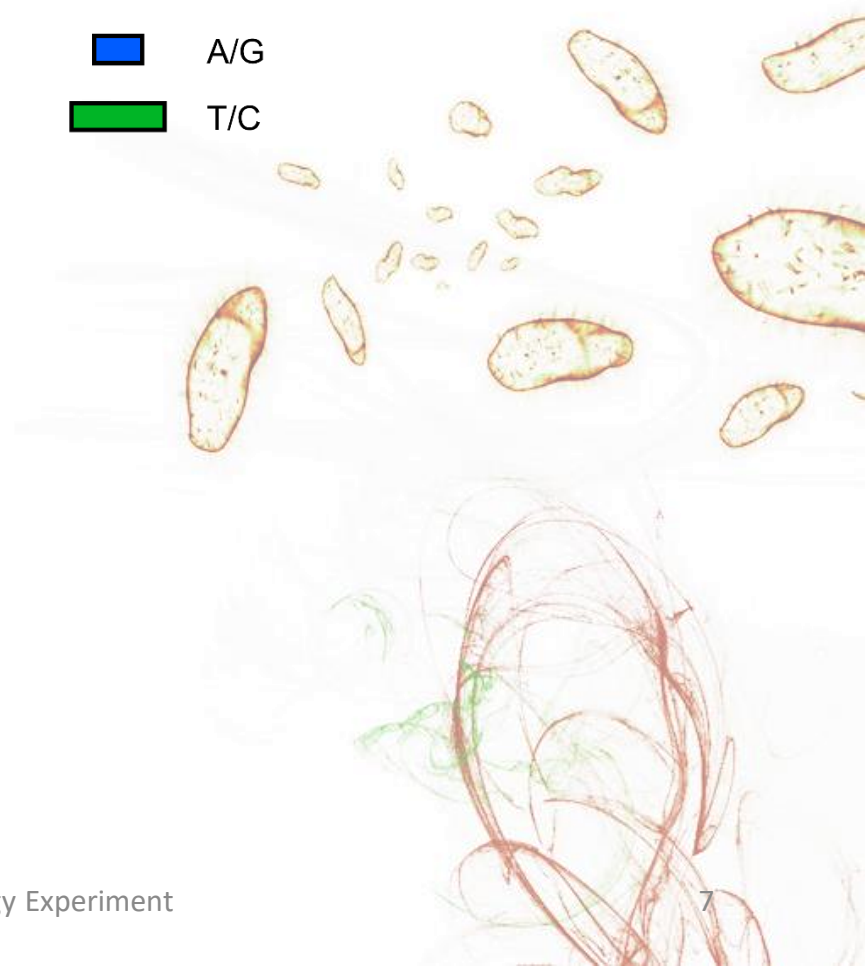
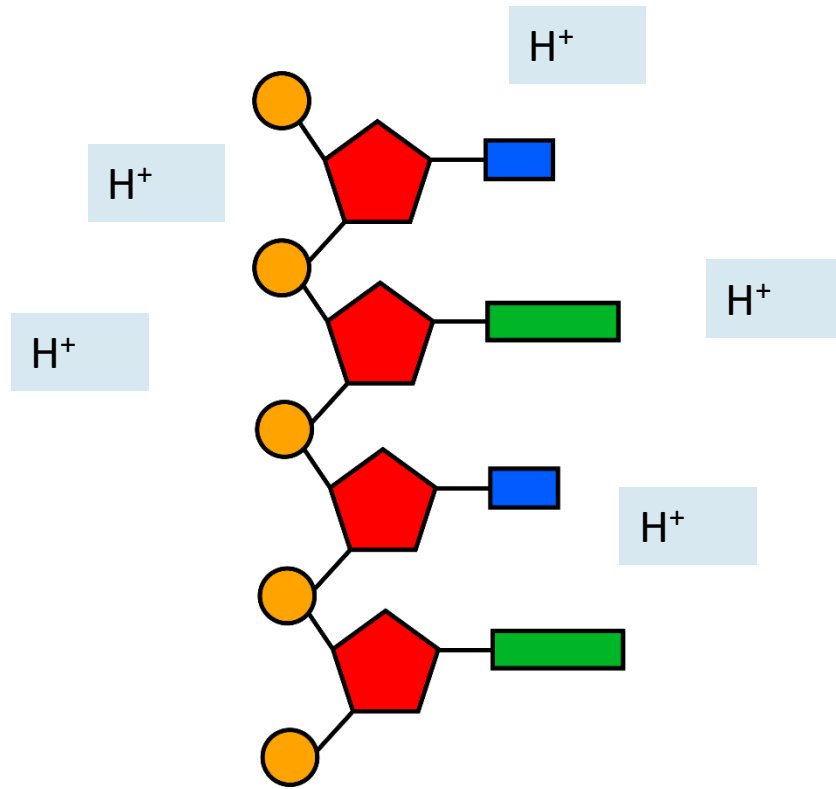
Feulgen反应

确定了DNA存在于细胞核和染色体；
为DNA的生物学功能研究引导了方向。



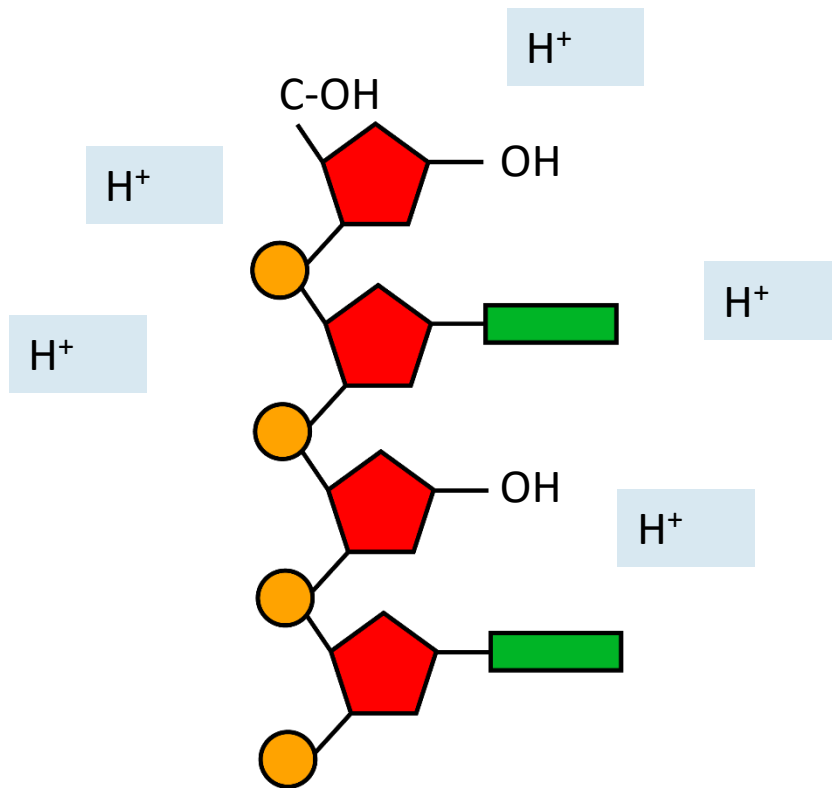
1.在水解过程中，DNA经过加热的弱酸水解后，分子中的嘌呤和脱氧核糖间的糖苷键被切断，并且脱氧核糖与磷酸间的磷酸酯键断开，脱氧核糖的一端释放出游离的醛基。

反应过程 (动画)

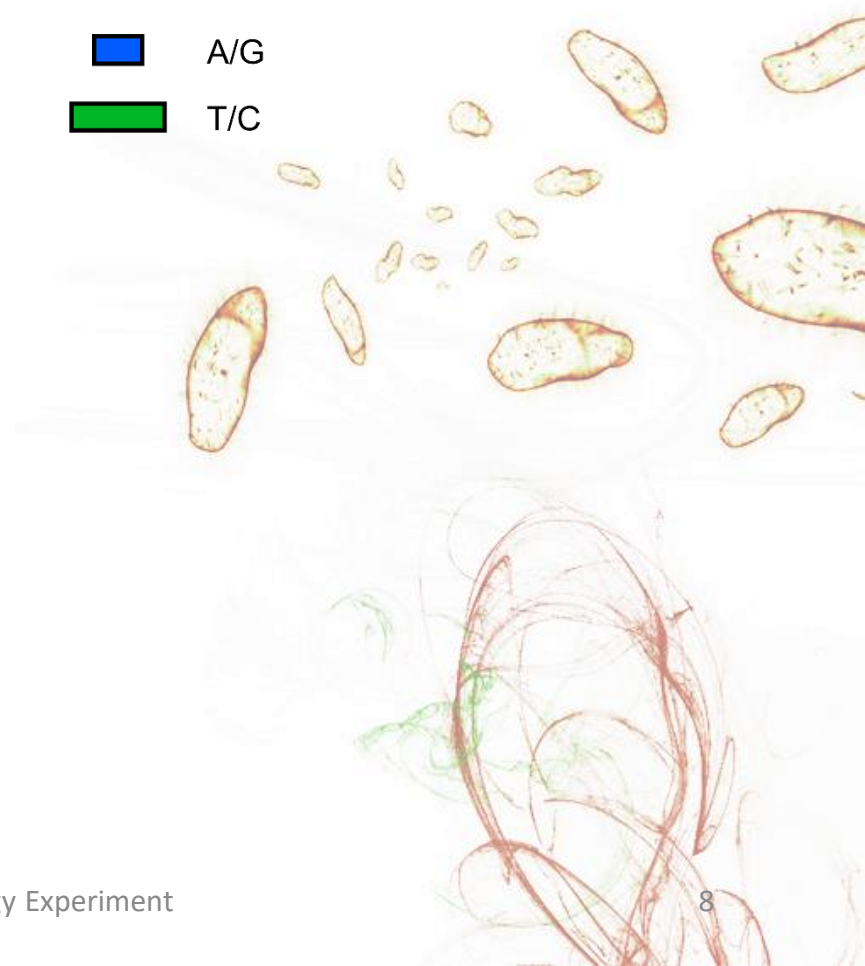


1.在水解过程中，DNA经过加热的弱酸水解后，分子中的嘌呤和脱氧核糖间的糖苷键被切断，并且脱氧核糖与磷酸间的磷酸酯键断开，脱氧核糖的一端释放出游离的醛基。

反应过程 (动画)

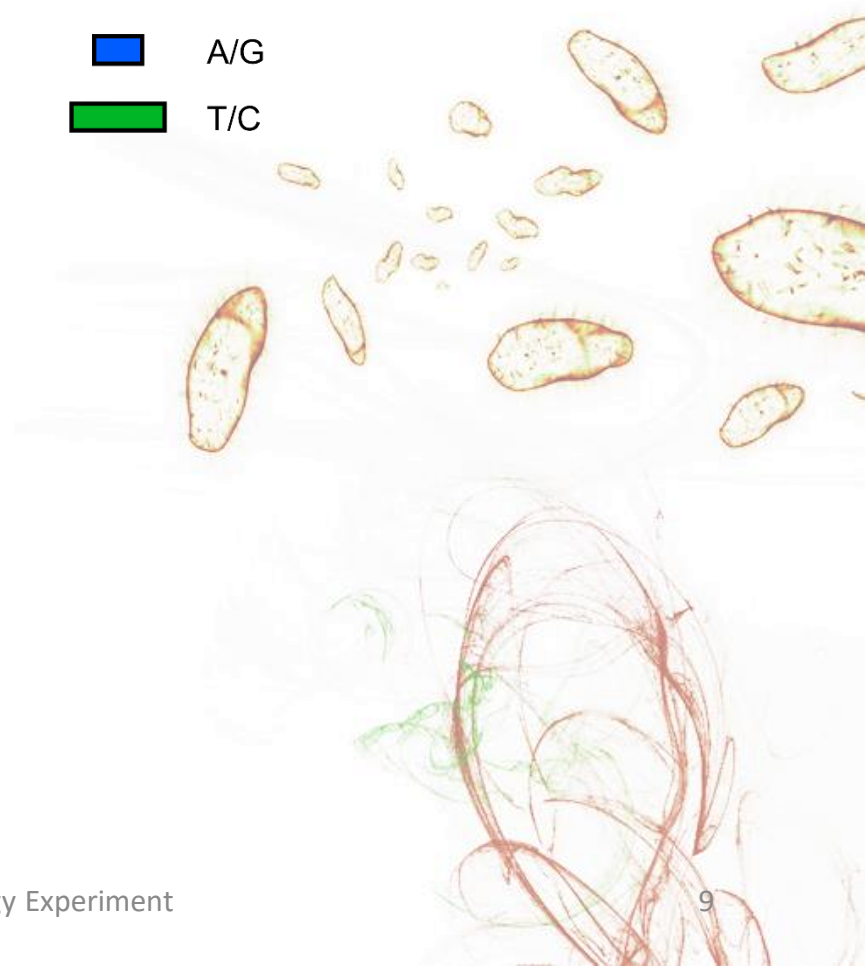
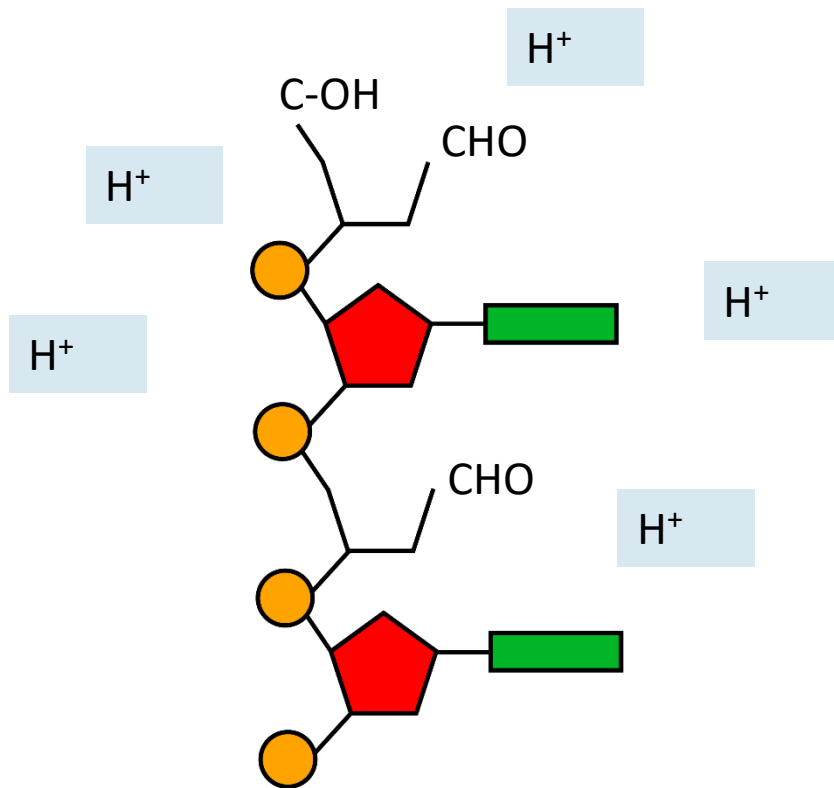


■ A/G
■ T/C



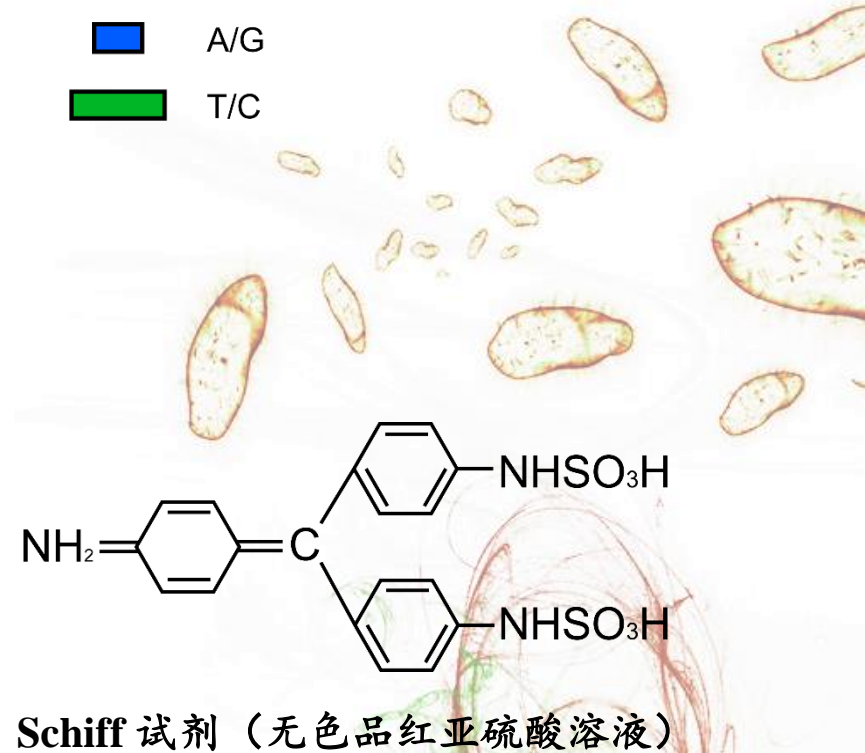
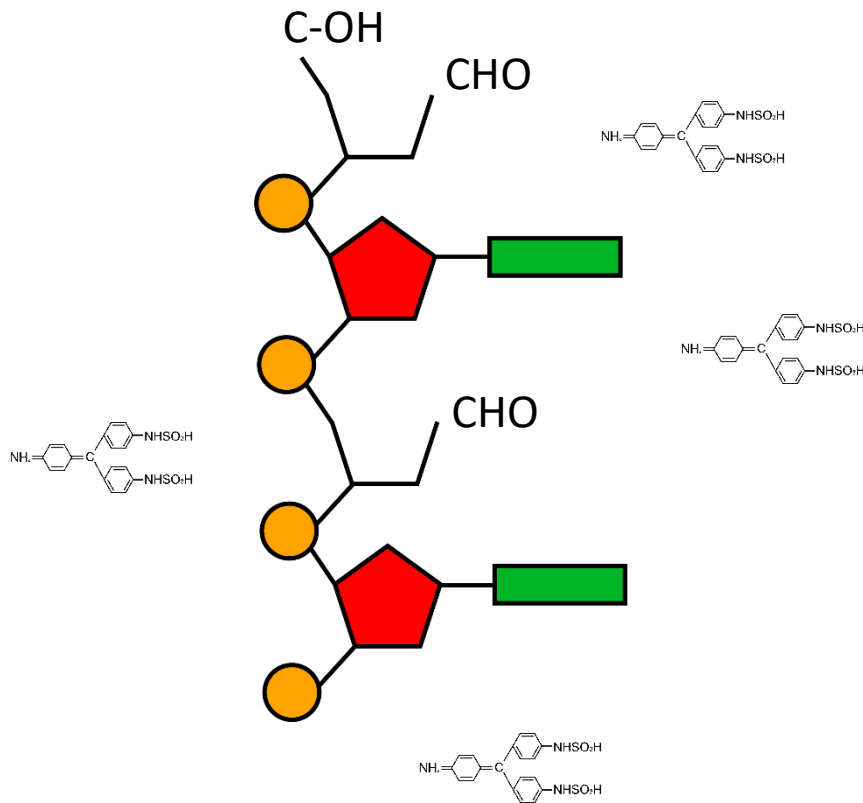
1.在水解过程中，DNA经过加热的弱酸水解后，分子中的嘌呤和脱氧核糖间的糖苷键被切断，并且脱氧核糖与磷酸间的磷酸酯键断开，脱氧核糖的一端释放出游离的醛基。

反应过程 (动画)



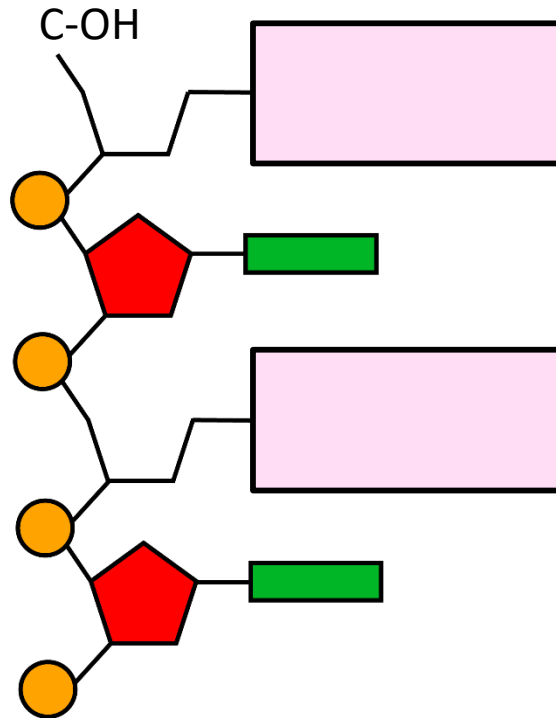
2.在显色过程中，上述游离醛基在**原位**与无色的Schiff试剂（无色品红亚硫酸溶液）反应形成含有醌基的紫红色产物，因而使细胞内含有DNA的部位呈现紫红色阳性反应。

反应过程（动画）

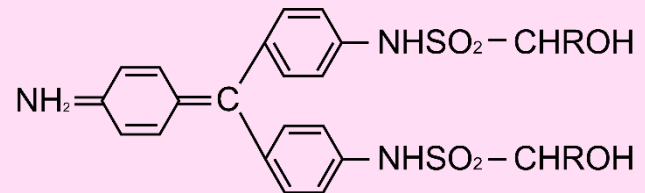


2.在显色过程中，上述游离醛基在**原位**与无色的Schiff试剂（无色品红亚硫酸溶液）反应形成含有醌基的紫红色产物，因而使细胞内含有DNA的部位呈现紫红色阳性反应。

反应过程（动画）



■ A/G
■ T/C



实验试剂、仪器、材料

试剂：5%三氯醋酸（过度水解），1mol/L盐酸（适度水解），Schiff 试剂（染色），亚硫酸钠水溶液（漂洗）。

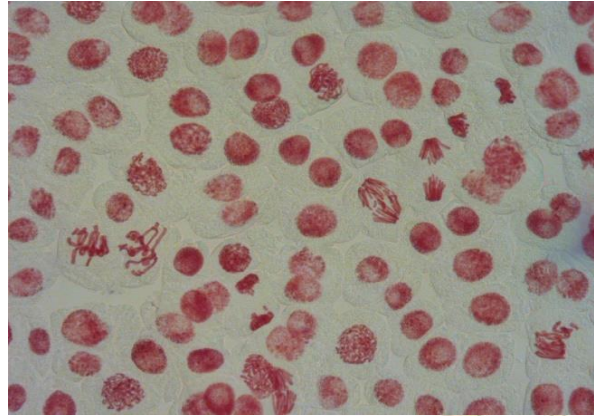
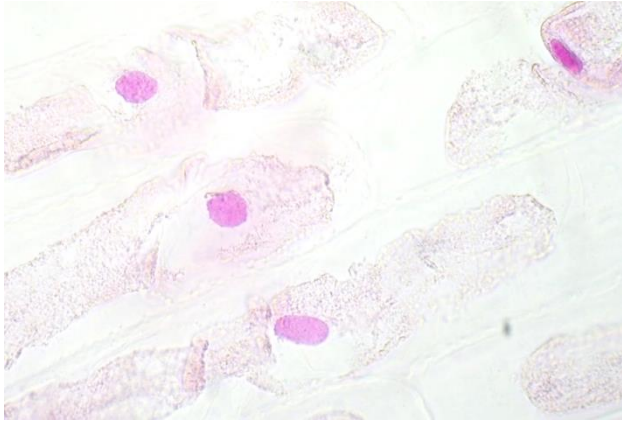
仪器：水浴锅、35mm培养皿、镊子、镊子、美工刀、计时器、废液缸、吸水纸、载玻片、盖玻片、小镊子、显微镜。

材料：洋葱。

实验流程

| 步骤 | 对照1 | 实验组 | 对照2 |
|----|--|--|----------------------------|
| 1 | 撕取小块洋葱内表皮加入1.5mlEP管中（至少3片），加入1ml 5%三氯醋酸，90 °C处理15min | | |
| 2 | 将三氯醋酸吸出，加入1ml 1mol/L HCl，60°C温育水解8-10 min | 撕取小块洋葱内表皮加入1.5mlEP管中，加入1ml 1mol/L HCl，60°C温育水解8-10 min | 撕取小块洋葱内表皮加入1.5mlEP管中，做好标记。 |
| 3 | 将洋葱表皮移入塑料皿中，加入蒸馏水2ml漂洗表皮5 min（中间轻轻晃动，换液2-3次） | | |
| 4 | 吸出蒸馏水，加入1ml Schiff试剂避光（放入抽屉中）浸染30 min | | |
| 5 | 新鲜配制的亚硫酸水2 ml漂洗3次，每次1 min | | |
| 6 | 蒸馏水漂洗5 min | | |
| 7 | 将表皮平铺于载玻片上，加盖玻片，在显微镜下观察。 | | |

结果



注意事项

1. Schiff试剂应该避光染色，染色结束后充分漂洗。注意不要将其沾在衣物上或者滴在地面、台面上。
2. 亚硫酸水溶液应现配现用。
3. 三氯醋酸和盐酸水解时间应准确。

►作业

高倍镜观察，绘图表示洋葱表皮细胞中DNA的分布。

►思考题：

在本次实验中设置两个对照试验的目的是什么？如果是你设计实验，你会怎样设计？

谢谢!

