基础实验

（实验 1～实验 20）

实验 1

植物染色体常规压片技术及核型分析

一、实验目的

1. 学习植物材料的固定方法和常规压片技术。
2. 观察有丝分裂过程中染色体的动态变化。
3. 掌握核型分析的原理和方法。

二、实验原理

一般认为，生命的特征为具有自我复制能力。单细胞生物通过细胞分裂而增殖，而对于多细胞生物体来说，其由受精卵开始的生长发育以及正常生命活动中的细胞更新都依赖于有丝分裂。正是由于人们在 19 世纪逐渐了解了细胞分裂的知识，才能够对孟德尔定律有比较深刻的认识。而细胞在进行有丝分裂的过程中，遗传物质的复制与传递是人们最为关心的。通过研究细胞分裂过程中染色体的变化，人们对于遗传因子（genetic factor）的认识更为深刻。[1]

理论上只要能够进行细胞分裂的细胞都可以作为观察染色体的材料，但考虑到具体实验所需，我们通常选取一些易于取材与操作，细胞分裂旺盛的组织，比如植物的顶端分生组织（根尖和茎尖）、居间分生组织（禾本科植物的幼茎及叶鞘）、愈伤组织和胚乳、萌发的花粉管等作为观察有丝分裂染色体的材料。[2] 细胞遗传学中观察染色体变化最基本最常用的方式即寻找适于实验的材料，进行取材，并经固定、离析、染色等处理后制成染色体玻片标本，即可利用显微镜直接对有丝分裂和染色体进行观察。染色体的观察既可加强人们对于染色体及有丝分裂原理的认知，也可在物种亲缘关系鉴定、染色体变异、杂种分析等工作中有着广泛的用途。

1．核型的概念

核型（karyotype）是指细胞核内染色体群的形态而言，是一个物种的体细胞内染色体数目、形态、长度等情况的总和。因此可以用核型代表生物的不同类型和特征。1922 年，德劳内（Delaunay）曾把核型作为系统学和分类学的单位。他认为从分类系统上看原始物种的染色体较长，而新的属染色体较短，因而染色体的缩短是核型的进化。有学者观察到核型在种、属间有渐变的差异，因此认为核型不是固定不变的。

核型研究的新趋势是研究染色体形态、结构和功能的关系。除了观察有丝分裂中期染色体的数目、形态，各染色体间的差异，初缢痕和次缢痕的位置，随体的大小及数目外，还要

注意染色体的结构、带型及间期染色质的形态差异等。

2．核型分析的内容

（1）染色体数目：通常统计根尖、茎尖等体细胞的染色体数目。

（2）染色体形态：观察染色体的长度、着丝粒及次缢痕的位置、随体的形态等。

a. 长度测定：染色体通常为棒状，在测量时从染色体的一端到另一端的线性长度，通常以微米（μm）表示。

绝对长度：指在显微镜下用测微尺直接测量的长度。染色体的绝对长度常因分裂期的差异、处理方法的不同而有所变化，因此绝对长度的数据也只有相对意义。

相对长度：是每条染色体的绝对长度与正常细胞全部染色体总长度的比值，通常用百分比表示。相对长度不会因分裂期和处理方法的不同而产生差异，因此是可靠的，所以，染色体的长度常常以相对长度表示。

b. 着丝粒的位置：一般来说，每条染色体着丝粒的位置是恒定的。染色体的两臂常在着丝粒处呈不同程度的弯曲。着丝粒位置的测定常用埃文斯（1961）提出的方法，即以染色体的长臂（L）和短臂（S）的比值来确定（表 1-1）。

表 1-1　不同着丝粒的臂比和表示符号

着丝粒位置	臂比（长臂 / 短臂）	表示符号
正中着丝粒	1	M
中部着丝粒	1～1.7	m
近中着丝粒	1.7～3.0	sm
近端着丝粒	3.0～7.0	st
端部着丝粒	7.0 以上	t

3．核型表示法

核型 K：染色体长度可分为长（L）、中（M）和短（S）三类。若不能明显分为三类，可以按长短顺序依次用 A、B、C、D、E 等表示。着丝点（kinetochore）的位置以 M、m、sm、st、t 表示。随体（satellite）以 Sat 表示。异染色质（heterochromatin）以 H 表示。次缢痕（secondary constriction）以 Sc 表示。易位（translocation）以 Vt 表示。[3, 4]

三、实验材料及用具

显微镜、测微尺、解剖器、培养皿、恒温水浴锅、温度计、烧杯、量筒、染色缸、洋葱、蚕豆或小麦种子。

四、实验方法及步骤

1．材料的准备和取材

将豌豆或小麦的种子放在烧杯内，加入适量清水，置于室温下过夜，使种子充分吸水膨

胀（蚕豆种子大，浸泡时间可长些，具体时间视种子吸水情况而定）。[5] 将吸水膨胀的种子捞出后，用蒸馏水清洗干净，然后在垫有湿纱布的培养皿或搪瓷盘内进行萌发（萌发时保持纱布湿润），萌发的适宜环境温度为 26℃。在根尖生长到 1～2cm 时取材比较合适，若根尖长得太长，则生长势减弱，分裂象就较少。较大的种子如蚕豆用侧根较好，而且还可以节省大量种子。若取用栽培植物的根尖，则应取新发的幼根并将根上的泥土充分洗净。

图 1-1　洋葱根尖的培养

洋葱根尖的培养较为简单，把洋葱上的老根用解剖刀削净，然后在搪瓷盘上放一筛网或用线绳在盘上拉几道网，在搪瓷盘内放入适量清水，将处理后的洋葱球茎放在网上使之刚好接触到水面。也可将洋葱直接放在装满水的烧杯上（图 1-1），使洋葱球茎接触到水面。在 26℃下培养，当根生长到 1～2cm 时取材。

2．预处理

如果我们实验的目的仅仅是观察有丝分裂过程则无须进行预处理，我们可以对有丝分裂的各个时期进行观察。但是在进行核型分析时，我们需要对染色体进行计数，同时还要对染色体的形态作出较为详细的描述，这样就必须进行预处理。因为只有处在细胞分裂中期的染色体最易观察，但细胞分裂中期持续的时间很短，一般只有 10～30min。在正常情况下固定的材料中，中期分裂象较少，而且即便是处在分裂中期的细胞，由于染色体紧密排列在赤道面上，因此在制片过程中很难分散开来，这样也就不能准确地进行染色体的计数和形态观察。为了克服这一困难，一般采用化学或物理的方法对材料进行预处理。预处理阻碍细胞分裂中纺锤体的形成，但并不影响分裂前期细胞的正常分裂，因此使得细胞分裂停止于中期，这样我们便可以获得较多的中期分裂象。同时预处理还可使染色体收缩变短，因此在制片过程中更易分散。

（1）预处理药物：可作预处理的化学药物有生物碱、酚类等，现将最为常用的几种药物介绍如下：

a. 秋水仙素（colchicine）：是从百合科植物秋水仙的种子和鳞茎中提取到的一种生物碱。它的分子式为 $C_{22}H_{25}NO_6$。纯的秋水仙素为针状结晶，一般商品为淡黄色粉末。熔点为 155℃，味苦。易溶于冷水、酒精、氯仿和甲醛，但在热水中溶解度较低，不易溶于苯和乙醚。

秋水仙素毒性极强，可以导致眼睛暂时失明，使中枢神经系统麻痹，呼吸困难，在使用过程中要特别注意安全，同时要做好药品的管理工作。

一般认为秋水仙素对纺锤丝有麻痹和毒害作用，也有人认为秋水仙素通过抑制 ATP 的机制从而破坏纺锤丝的形成及活动。秋水仙素水溶液的浓度与其作用效果成正比例关系，浓度越高，作用越强。各种植物对药物反应的域值不同，因此预处理时所用秋水仙素溶液的浓度范围为 0.01%～1%，常用的浓度为 0.05%～0.2%。

b. 对二氯苯（*p*-dichlorobenzene）：其分子式为 $C_6H_4Cl_2$，无色晶体，具有特殊的臭味，常温下可升华。易溶于乙醇、乙醚、苯等有机溶剂，难溶于水，易燃而且有毒。由于对二氯苯难溶于水，所以一般用它的饱和水溶液，处理植物时只考虑处理时间的长短。它的作用效果与秋水仙素相似，但价格却低得多，便于广泛使用。

c. 8- 羟基喹啉（8-hydroxyquinolin）：为白色晶体或粉末，溶于酒精而难溶于水，相对分子质量为 145.17。8- 羟基喹啉的作用机制，一般认为它首先引起细胞质黏度的改变，结果导致纺锤体的活动受阻。实验证明，8- 羟基喹啉适用于那些具有较大染色体的植物，所用浓度范围是 0.002～0.004mol/L 之间。它的优点是经它处理后，染色体的缢痕区比较清晰。

d. α- 溴萘：是一种无色或淡黄色的液体。易溶于乙醇和苯，微溶于水。在使用时，可以将一滴 α- 溴萘加入到 100ml 蒸馏水中配成饱和水溶液使用。但注意随配随用，新配制的药液效果较好。实验表明，α- 溴萘特别适合于禾本科和水生植物的预处理，如将小麦的非离体根浸入到 α- 溴萘的饱和水溶液中培养 12h，可以得到大量的分裂中期的染色体。

（2）处理方法

a. 离体处理：将植物的根或茎等组织从植株上切下来，然后直接放到预处理液中进行处理，这种方法简便易行。

b. 非离体处理：将植物的种子萌发后，把带根的种子一起放到预处理液中进行处理。也可将植物的幼小植株放在预处理液中进行培养从而达到预处理的目的。

（3）处理时间

处理时间的长短主要取决于如下因素：

a. 根据植物染色体的大小：若植物的染色体较大，处理的时间就长一些；相反，染色体小的材料，处理时间应短一些。

b. 根据植物材料的大小：若植物材料较大，处理时间可长些；若材料较小，处理时间可缩短。

c. 根据处理方法的不同：离体处理时间应短，非离体处理时间可长。

d. 根据植物的耐药性的不同：不同植物对药物的反应是有差异的。如用对二氯苯处理植物时，高粱、棉花、白菜等植物的耐药性差，宜作短时处理，一般以 1～2h 为宜。时间过长将产生染色体粘连、聚缩等毒害反应。但马铃薯、玉米和水稻的耐药性就强些，可处理 3～4h。

e. 根据处理液的浓度：高浓度时应处理时间短些，低浓度可长些。

f. 根据处理温度：高温时处理时间应短，低温时处理时间可长些。由于预处理药物在不同程度上对植物具有毒害作用，而且这种毒害作用随着温度的升高而增大，因此在预处理时一般以低温长时间处理为宜，温度范围控制在 10～20℃以内。

（4）低温预处理法

低温处理也可以引起染色体的缩短并可获得较多的中期分裂象，而且此法无须使用任何药物，安全性高。但不同的植物所需的预处理温度是有差异的，例如小麦的处理温度为 1～5℃，水稻和玉米则需 6～8℃，处理时间一般在 20～40h。这种处理方法简单，但需要较长的处理时间，因此没有用化学药品处理法应用的广泛。

3．固定

固定的目的是用各种渗透力强的固定液将植物的组织、细胞迅速杀死，使蛋白质沉淀，并尽量使其保持原有状态。将生活的细胞固定以后，将有利于后续的解离、染色等工作。

（1）固定液：比较常用、有效的固定液是 Carnoy 固定液，它是 Carnoy 1886 年发明的。

Carnoy Ⅰ（体积比）：冰醋酸　1 份，100% 乙醇　3 份。

Carnoy Ⅱ（体积比）：冰醋酸　1 份，氯　仿　3 份，100% 乙醇　6 份。

第Ⅰ配方应用最为广泛，第Ⅱ配方常应用于某些含油脂类物质较多的材料以及某些需要更加硬化的组织的固定。

（2）固定时间：一般固定时间为 24h，然后将固定好的材料转入到 70% 的乙醇中进行保存，长时间保存可放在冰箱储藏室内。

4．解离

植物的分生组织（如根尖、茎尖等）需要经过处理，以便除去细胞之间的果胶层并使细胞壁软化，经解离后的植物组织才能使压片步骤顺利进行。解离常用酸解法和酶解法。

a. 酸解法：固定后的材料用清水洗涤后，放入 1mol/L HCl 中在 60℃下恒温处理 5～20min，如洋葱根尖处理 10min 即可。在酸解过程中一定要掌握好温度和时间，若解离不够，则压片不易分散。若解离时间过长，在下一步处理时由于材料过软而易将根尖丢失。

b. 酶解法：用 1%～2% 的果胶酶，或与 1%～5% 的纤维素酶混合使用均可将植物组织解离，但在常规压片中很少使用。

5．染色

（1）常用染料及其配制

a. 洋红（carmine）：是从雌性胭脂虫中直接提取到的一种染料，是非结晶性的紫褐色物质。洋红中具有染色活性的是洋红酸，但如果只用纯的洋红酸染色，效果则不如洋红。洋红的分子式为 $C_{22}H_2O_{13}$，相对分子质量为 492.38。

在压片技术中比较常用的配方有：

铁 - 醋酸洋红：用 100ml 45% 的醋酸水溶液放在较大的锥形瓶内煮沸，然后将锥形瓶移开火源，将 1g 洋红粉末缓缓加入，这时要特别注意防止沸溅。在洋红粉末全部投入后，继续煮 1～2min 即可。此时将一生锈的小铁钉悬在染液中，过 1min 后取出，使染色液略具铁质。

醋酸 - 盐酸洋红：这是一种改良的方法，用 9 份 1% 的醋酸洋红 1 份 1mol/L 盐酸混合，适用于芽类染色体压片。

b. 碱性品红（basic fuchsin）：是三苯甲烷的一种碱性染料，商品碱性品红是由三种染料混合而成，即 *p*- 氯化蔷薇苯胺、碱性品红和新品红。碱性品红染料有两个重要配方，一是石炭酸品红，另一个是 Schiff 试剂。

石炭酸品红（carbol fuchsin）：

原液 A：取 3g 碱性品红溶于 100ml 70% 的乙醇中，此液可长期保存。

原液 B：取 10ml 原液 A 加入 90ml 5% 的石炭酸水溶液，此液在两周内使用。

染色液：取 45ml 原液 B 加入 6ml 冰醋酸和 6ml 37% 的甲醛。此染液适合植物原生质培养中的细胞核染色，由于含有较多的甲醛，可以使原生质硬化而保持其固有的形态。但由于其不能使组织软化，因此不适于一般植物材料的染色。为了克服这一缺点，可使用改良的配方：

改良石炭酸品红染液：取上述染色液 2～10ml 加入 90～98ml 的 45% 的醋酸和 1.8g 山梨醇即可。此染液放置两周后使用，染色能力显著加强。在室温下存放，两年内可保持染色液稳定。实践证明这是一种优良的核染色剂，用它染色只有细胞核及染色体被染上紫红色而细胞质不着色。

Schiff 试剂：这是孚尔根反应（Feulgen reaction）的染色剂。它的基本原理是细胞经过温和的酸水解作用，使 DNA 上的嘌呤－脱氧核糖的糖苷键上的嘌呤除去，从而使脱氧核糖的醛基游离，这些游离的醛基再与 Schiff 试剂反应形成紫红色的加成复合物。

Schiff 试剂的配制方法：将 0.5g 的碱性品红溶于 100ml 煮沸的蒸馏水中，充分搅拌使之全部溶解。冷却到 58℃后，将其过滤到一棕色瓶中，待滤液冷却到 26℃再加入 10ml 1mol/L 盐酸和 0.5g 无水亚硫酸氢钠，振荡使其溶解，然后将瓶口密封，置于黑暗和低温处 12～24h 后进行检查，若染色液透明或呈淡茶色者可以使用。若有不同程度的红色，可加入 0.5g 优质活性炭，不断摇动染色瓶，在 4℃下静置过夜，过滤后可使用。

c. 苏木精（haematoxylin）：是一种从墨西哥的豆科植物洋苏木的心材中提取到的天然染料。其分子式为 $C_{16}H_{14}O_6$，相对分子质量是 300.256。

苏木精本身对植物组织和细胞的亲和力不强，因此不能直接用作染色。它必须依靠媒染剂的作用才能对细胞染色，最常用的媒染剂是硫酸铁铵和硫酸铝铵等盐类。苏木精染色的最大特点是适用范围广，几乎所有植物都可用它染色，着色力强，颜色的保存性好。

配制方法：铁矾 - 苏木精。

媒染剂：一般用 4% 的铁矾（硫酸铁铵）水溶液。所用的铁矾应选用淡紫色而透明的结晶，如为白色或黄色粉末则不能用。此外，铁矾水溶液的保存性差，在冰箱中保存一般也只能保存两个月左右，最好使用新配制的溶液。

染色剂：一般用 0.5% 的苏木精水溶液。配制时按每 0.5g 苏木精加入 10ml 酒精助溶，待完全溶解后，再加入蒸馏水至需要量。用纱布包扎瓶口，使瓶内外空气能流通，使其慢慢氧化，在室温条件下，要经过 15～30 天的成熟过程，经过滤后方可使用。为加速成熟过程，可采用如下方法：在 100ml 新配制的苏木精染色液中加入 3～5ml 过氧化氢，或在配制染色液时改用煮沸的蒸馏水配制，这样可使染色液在配制完后即可投入使用。

（2）染色操作：一般情况下，经过固定的材料马上进行染色效果较好，染色清晰而且染色体易分散。经 70% 的酒精长期保存后，细胞质也容易着色，并且染色体有不同程度的粘结，所以分散性差。

a. 醋酸洋红和石炭酸品红的染色：这两种染色的方法基本相同而且简单。固定后的材料经解离后用蒸馏水过洗后，将材料转置载玻片上，用刀片将根冠和伸长区切除，只留分生区部分。然后加一滴染液，染色 5～10min 即可。注意用醋酸洋红染色时，可盖上盖玻片，然后在酒精灯上稍加热，但注意不能煮沸，这样做可使材料更易软化和着色，并破坏部分细胞质，使染色背景清晰。用石炭酸品红染色时一定要把握好盐酸解离的时间，解离时间过长或过短都不利于染色，一般为 6min。染色结束后进行常规压片。

b. Schiff 试剂染色（Feulgen reaction）：固定好的材料用蒸馏水反复洗几遍，然后将材料放入已预热至 60℃的 1mol/L HCl 中保温 10min 左右，然后用冷 1mol/L HCl 洗一次，最后把材料转入 Schiff 试剂中，在 10℃黑暗条件下染色 1～5h。染色结束后将材料转到蒸馏水中或 45℃的醋酸中。

c. 铁矾 - 苏木精染色：这种染色方法可适用于大多数植物材料，对染色体可染上很深的颜色，分色清晰。对于染色体多而不易分散的材料，用这种染色法能够取得满意的效果。

方法：将固定好的材料用蒸馏水洗净，转入到 4% 的铁矾水溶液中，在 30℃下保温 2h，然后换蒸馏水洗 4～5 次，每次 5min，将铁矾充分洗净，最后用 0.5% 的苏木精水溶液染色 2～4h 或更长的时间。如果在染色时发现染色液浑浊，则说明铁矾没有洗净，需重新换水洗

涤后再进行染色。染色结束后。用水将材料洗 5～10min，再用 45% 的醋酸分色并软化至合适，然后进行压片。

操作要点：媒染一定要充分，最好使用新配制的媒染溶液。媒染后的水洗要充分，水洗不足时将影响染色效果，并会在组织内外产生大量沉淀，由此制成的片子很污浊。分色和软化是此法的关键步骤，因为用此法染色不仅染色体被染成深黑色，细胞质和细胞壁也有不同程度的着色，这需要在 45% 的醋酸中进行分色和软化，使得染色体呈现黑色而其他部位的颜色大都退掉，这一分色时间的长短在不同材料中是有差异的，从几分钟到几小时，在实验中要不断镜检来做出判断。

6．压片操作

将染色后的材料盖上盖玻片放在平整的桌面上，在盖片上盖上两层吸水纸，用左手手指压紧，防止盖片滑动，然后用右手持解剖针，用针柄轻敲盖片，方可使材料均匀分散开，导致细胞分离压平。也可用右手的拇指轻压盖片，使得材料分散。具体使用哪一种方法，压片时使用多大力量，需要在实验中摸索和掌握。我们推荐一种方法供大家参考：用一个双面刀片，插到盖片与载片之间的一角，然后用解剖针柄轻敲盖片，这样细胞很容易散开，然后将刀片撤出，再用针柄重敲盖片即可。

7．镜检

一般来说，在制成的染色体玻片标本中，染色清晰而且分散良好的中期分裂象总是少数，所以，在压片之后需要认真地进行镜检。镜检时先用低倍镜进行观察，找到一个好的视野后再转用高倍镜观察。合格的制片，可用防水墨水在盖片和载片的交界处画线作记号，作为制作永久制片时封片的标记。

一张优良的细胞染色体制片至少应符合以下条件：

（1）在一张制片中应有较多的中期分裂象。

（2）染色体分散而不重叠。

（3）染色体不扭曲、断裂，主缢痕、随体等清晰。

（4）制片基本上为一层平展的细胞，观察时看到视野内的细胞都处在一个平面上。

（5）染色体着色较深而细胞质不着色或着色很浅，背景清晰无过多杂质。

8．永久制片法

经过镜检确认是较好的制片可以制成永久玻片标本。制作的方法很多，下面列举几种主要的方法：

（1）冷冻脱片封片法：制成的临时玻片可以直接放到液氮或冰冻制冷器中进行冷冻，然后用刀片插入盖片和载片之间的一角，轻轻将盖片揭开，将载片和盖片同时放入 37℃的温箱中烘干。取出后在二甲苯中浸泡 10～20min，最后用中性树胶封片即可。此法的特点是简便易行，特别适合某些材料容易脱落的制片。

（2）酒精—叔丁醇脱水封片法：预先备好 4 套培养皿，每一培养皿内放一短粗的玻璃棒，然后按 1、2、3、4 顺序分别加入以下试剂：

1 号：1/2 95% 的乙醇和 1/2 45% 的醋酸；

2 号：95% 的乙醇；

3 号：1/2 95% 的乙醇和 1/2 叔丁醇；

4 号：叔丁醇。

在操作时，将临时玻片标本的盖片朝下，浸入 1 号培养皿内并使载玻片一端置于玻璃棒上，玻璃棒斜放在培养皿上，让盖片自行滑落。然后按照顺序将盖片和载玻片依次脱水（从 1 号到 4 号），每次操作 5～10min。脱水完毕后将其置于滤纸上以吸除多余的叔丁醇，最后用尤派胶或溶于叔丁醇的其他树胶封片。

（3）醋酸—正丁醇和二甲苯封片法：用冷冻法揭片后，按以下顺序进行脱水（按体积比）：

1 号：正丁醇 1 份，冰醋酸 1 份，半分钟；

2 号：正丁醇 2 份，冰醋酸 1 份，半分钟；

3 号：正丁醇 9 份，冰醋酸 1 份，半分钟；

4 号：正丁醇，半分钟；

5 号：正丁醇，半分钟；

6 号：二甲苯，几秒。

最后用加拿大树胶或中性胶封片。

9．核型分析

（1）选取 10 个中期分裂象较好的细胞，进行显微照相，取清晰的底片进行放大，洗出照片。

（2）在显微镜下用测微尺测量每条染色体的绝对长度，用尺子在照片上测量计算出每条染色体的相对长度和臂比。

（3）根据测量结果比较染色体的相对长度、臂比、副缢痕的有无和位置、随体的有无、形态和大小，进行同源染色体的配对。

（4）染色体的排列通常是从大到小、按长度顺序编号。等长的染色体以短臂长的在前；有特殊标记的，如具随体的染色体多排列在最后，性染色体应单独列出。按照前面列出的标准对染色体进行分类。染色体的编号有多种方法，如人类染色体核型是按分组编号，但是部分染色体的长度差异不大，因此严格分组很难进行，所以一般不采用这种方法，只有那些可以将染色体明显分为不同长度类群的植物类型才使用分组编号，如芦荟、水仙等。异源多倍体植物则按照染色体组的亲缘关系进行分组排列，如普通小麦等（彩图 1-2）。

（5）将配对排列好的染色体贴在白板纸上，进行翻拍并绘出染色体核型的模式图。

也可采用数码照相机，将中期染色体照相后存储到计算机内，采用商业化的核型分析软件进行分析。

若考虑到经费问题，也可将存储到计算机内的染色体图像，以 Photoshop 软件进行剪裁处理，配对归类。[6]

10．有丝分裂过程观察（洋葱根尖）（彩图 1-3）

（1）间期（interphase）：细胞核着色均匀，看不到染色体。间期又可以分为 G_1 期（gap1）、S 期（synthesis）和 G_2 期（gap2）。G_1 期从上次细胞分裂结束到下次染色体复制开始这段时间，此期内主要进行细胞生长和制造一些细胞功能物质。G_1 期的时间长短变化很大。如胚胎期细胞 G_1 期只有几小时，而成熟的脑细胞在此期处于停滞状态（G_0），一般不再进行分裂。S 期细胞进行 DNA 复制，经过 S 期，染色体 DNA 含量加倍。G_2 期是从染色体 DNA 复制结束到细胞开始进行分裂。因此间期是细胞为分裂而进行物质和能量的准备期，表面上

看似乎细胞处在静止状态，实际上进行活跃的 DNA 复制和蛋白质合成活动。

（2）前期（prophase）：染色质经螺旋化逐步折叠浓缩成染色体，因此在光学显微镜下可以看到。由于经过了染色体复制，因此在前期的较晚阶段每条染色体包含了两条染色单体的结构，共同连接在同一着丝粒处。

（3）中期（metaphase）：细胞核膜和核仁的解体是进入中期的标志。中期的染色体浓缩得很短，形态特征典型。所有染色体以其着丝粒排在赤道面上，染色体两臂排在赤道面两侧。如果制备细胞染色体标本时，是从细胞极面压片而成，则可以看到中期染色体排成一个环状结构。由于中期的染色体高度浓缩，同时形态清晰，因此是进行染色体分析的最佳时期。

（4）后期（anaphase）：染色体在着丝粒处分裂，分开的染色体在纺锤丝的作用下有序地分向两极，分裂后的细胞每一极都得到原来细胞同样数目和质量的染色体。

（5）末期（telophase）：染色体到达两极后，细胞重建核仁、核膜。浓缩的染色体逐渐失去高度螺旋化状态，分散在细胞核内。

（6）胞质分裂（cytokinesis）：有丝分裂的最后阶段是进行胞质分裂。胞质分裂起始于有丝分裂后期，直到末期结束。胞质分裂使分到两极的细胞核形成两个独立的细胞，这一过程在动、植物中是有差异的。植物在胞质分裂时在赤道面形成细胞板，进而将细胞一分为二。而动物细胞的胞质分割依赖于收缩环，它将细胞分成大致相等的两部分。在胞质分裂中，细胞质中的细胞器也被分到两个子细胞中。但是在细胞分裂过程中也有一些例外的情况发生，如细胞核分裂而胞质不分裂，染色体复制但细胞核不分裂等。

五、作业及思考题

1. 固定液的作用是什么？其中各组分的作用机制分别是什么？在使用固定液时应注意什么？
2. Schiff 试剂染色的原理是什么？
3. 在你观察细胞分裂过程中，哪些分裂时期的细胞最多？
4. 根据你的实验经验，制备好一张优良的细胞分裂标本应注意哪些问题？

参考文献

［1］LELAND H, LEROY H, MICHAEL L G, et al. Genetics: from genes to genomes［M］. Boston: McGrawHill, 2000.

［2］李懋学，张赞平．作物染色体及其研究技术［M］．北京：中国农业出版社，1996.

［3］RIDER C L, MATSUDAIRE P, WILLSON L. Mitosis and meiosis (methods in cell biology)［M］. New York: Academic Press, 1998.

［4］THOMAS R M, ROBERT L H. Genetics: laboratory investigations［M］. New Jersey: Prentice Hall Upper Saddle River, 2001.

［5］彭勇，段彬江，黄发享．自制“浮床法”培养蚕豆根尖［J］．生物学通报，2012（1）：60-61.

［6］蒋珊珊，梁英民，王作军．利用个人电脑系统和 Photoshop 软件进行核型分析［J］．第四军医大学学报，2000，21（7）：860.