

综合评述

植物染色体的银染技术、原理及应用

李 懋 学

(北京大学生物系)

SILVER STAINING OF PLANT CHROMOSOMES —TECHNIQUES, PRINCIPLE AND APPLICATION

Li Maoxue

(Department of Biology, Beijing University)

关键词 银染; 植物染色体

Key words Silver staining; Plant chromosomes

早在本世纪初, 硝酸银(AgNO_3)溶液就已用作动物神经细胞的染色剂。其后, 又广泛地用于核仁的染色。但真正应用于染色体研究, 则是始于1975年Howell等人^[84]的工作, 他们以硝酸银和氢氧化铵的混合液(简称铵银)处理人的染色体片, 再用福尔马林使银还原, 发现某些具近端着丝点染色体的短臂端部, 特异性染成黑色。认为这是随体(SAT)染色, 故该染色方法称之为AS-SAT技术。同年, Goodpasture等^[24]将染色体片先经硝酸银溶液处理, 然后再用铵银溶液处理, 称之为Ag-AS技术, 对人和哺乳动物染色体的染色结果, 经与Hsu等^[39]用分子原位杂交所得结果对照, 证明银染色区就是18S和28S rRNA基因的分布区, 即核仁组成区(NOR), 而不是随体染色。从此, 便开创了对染色体组中NOR进行定位和定性研究的细胞学新技术, 即Ag-NOR染色技术。此后, 许多作者对该技术进行了不断改进^[5,10,15,23,31,32], 既可在光学又可在电镜下观察, 染色质量也大为提高。此外, 改变染色体的前处理条件, 还可同时显示NOR和着丝点^[10,75]。

更为突出的发展是银染减数分裂前期的联会复合体(Synaptonemal complex, 简称SC)的成功^[11]。成为现在可在光学和电子显微镜下进行SC研究的主要技术。银染技术还扩大应用于中心粒^[35]、染色体轴心^[36]、姐妹染色单体互换^[25]和核基质网络^[10]的研究。

因此, 可以说银染技术是继荧光和Giemsa分带技术之后, 新发展的一项最重要的

染色体研究技术。近年来的研究报道表明,银染核仁、NOR、SC、染色体轴心和中心粒等,是目前细胞学和细胞遗传学研究的一个活跃的领域。该技术在人和动物染色体研究中已广泛应用,但在植物界则欠普遍,国内的研究就更少见。因此,本文在介绍银染技术和应用时,将尽可能以植物材料为例,以便于大家参考。

银染技术流程

1. NOR 染色法

1.1. Ag-AS 染色流程^[24]

配制以下溶液:(1) 50% AgNO_3 (W/V) 水溶液;(2) AS 溶液(Ammonium-Silver), 4 克 AgNO_3 溶于 5 毫升无离子水中, 再加 5 毫升 NH_4OH , 充分混匀后使用;(3) 3% 中性福尔马林(每 100 毫升溶液中加入 2 克无水醋酸钠, 使用时用甲酸调 pH 至 5—6)。

现以百合为例^[43], 其主要操作程序如下: 根尖用 0.02% 秋水仙素水溶液处理 4—5 小时——卡诺固定液固定 1 小时——水洗后用 0.1mol HCl 于 60℃解离 8—14 分钟, 或在 1mol HCl 中于室温下解离 4—7 分钟——水洗后用 45% 醋酸压片——冰冻脱盖片后空气干燥 1 小时——加 4 滴 50% AgNO_3 水溶液, 加盖片后置潮湿培养皿中于 65—70℃温育 15—20 分钟——水洗后气干 1—4 小时——加 4 滴 AS 溶液和 4 滴 3% 福尔马林, 混匀, 加盖片, 镜检, 至 NOR 显示黑色——水洗后可用 1% Giemsa (pH 6.8) 复染——水洗, 干燥, 中性树胶封片。作者认为固定时间不宜太长。盐酸处理要谨慎, 处理过度会导致着丝点染色。

1.2. Ag-I 染色流程^[5]

此即 AgNO_3 一步染色流程。干燥制片上加几滴 50% AgNO_3 水溶液后, 加盖片, 置潮湿培养皿中于 37℃温育 18 小时或 50℃温育 2—5 小时, 至 NOR 显示黑色。

现以蚕豆和小麦为例^[1], 简介如下: 经预处理后的根尖用卡诺固定液于冰箱中固定 24 小时——去壁低渗法制片, 干燥约 1 周——0.2mol HCl 于室温下处理 2 小时——水洗后风干——加几滴 50% AgNO_3 水溶液, 加盖片, 60℃温育约 6 小时。

Ag-I 染色流程的程序简便, 应用也最为广泛, 改进的流程和染色方法也很多, 现摘其部分介绍如下:

(1) AgNO_3 -明胶染色法^[23,37] 空气干燥片上加 1 滴 2% 明胶溶液(2 克粉状明胶溶于 100 毫升无离子水中, 再加 1 毫升甲酸)和 2 滴 50% AgNO_3 水溶液, 混匀, 加盖片, 在 40—50℃温育 6—8 分钟, 水洗后加几滴 5% 硫代硫酸钠水溶液, 处理 4—5 分钟, 水洗后干燥。此法染色时间短, 染色均匀, 缺点是细胞质也易染成黄色。

(2) 干燥片先在硼酸盐缓冲液(pH 9.2)中处理 15—20 分钟, 然后用 50% AgNO_3 染色^[3]。

(3) 干燥片在 2×SSC 盐溶液中处理 1—3 小时, 然后用 50% AgNO_3 染色^[69]。

(4) 干燥片用 BSG 显示 C-带的处理以后, 用 50% AgNO_3 染色^[47]。

(5) 干燥片先经 Schiff's 试剂处理 1—3 小时后, 用 50% AgNO_3 染色^[77]。

(6) 用 100 微米的微孔尼龙薄片代替盖片^[45]，染色效果会更好。

此外，一些更详细的改进流程^[15,32]的具体操作，不再详述。

1.3. 整体染色流程^[14,22,82] (以洋葱根尖为材料，用银染方法研究核仁结构和核仁周期) 其主要操作程序如下：

切取根尖浸入 0.01% KMnO_4 水溶液中 5 分钟——蒸馏水洗 10 分钟——在 10% 福尔马林和 1% 对苯二酚水溶液中 (1:1, 配制 2 天后使用) 于室温下处理 6 小时——蒸馏水换水洗 30—45 分钟——转入 2% AgNO_3 水溶液中于 70℃ 黑暗温育约 36 小时——蒸馏水换水洗 30—45 分钟——用同上固定液处理 1—2 小时——蒸馏水洗几次——用 50% 醋酸软化和压片。

2. 同时显示 NOR 和着丝点的染色法

2.1. HCl-Ag-I 染色流程^[75]

该流程对植物材料很有应用价值，曾对 15 种植物进行了银染色试验，均获成功。其主要操作程序如下：

经预处理后的根尖用卡诺固定液于 5℃ 固定 1 小时——经各级酒精复水——根尖置载片上，加 2—3 滴新配制的 4% 纤维素酶和 1% 果胶酶 (1:1) 混合液 (用稀 HCl 调 pH 3.9—4.1)，于 37℃ 温育 50—60 分钟——水洗后重新固定约 1 分钟——压碎、分散和火焰干燥制片——空气干燥 1 天——在 0.2mol HCl 中于约 20℃ 处理 1—2 小时——蒸馏水洗 3 次，每次 5—10 分钟——空气干燥一天——加 2—3 滴 50% AgNO_3 水溶液于 50℃ 温育 1—6 小时——水洗，干燥，封片。

在该流程中，延长固定时间和空气干燥的时间，对显示着丝点均不利。

2.2. NaOH-Ag-AS 染色流程^[10]

在空气干燥片上加 4 滴 0.01% NaOH (以蒸馏水稀释至 pH 8.5, 约为 10^{-5} mol NaOH) 水溶液，处理 30—40 秒，水洗，气干——加几滴 33.3% AgNO_3 水溶液，加盖片，在强照明灯光下曝光 10 分钟 (温度约为 50—70℃)，冷却，水洗，干燥——加 2 滴 AS 溶液和 2 滴 3% 中性福尔马林，混匀，染色 1—3 分钟——水洗，干燥。在该流程中，严格控制 NaOH 的 pH 值和处理时间，是成功的关键。

3. 联会复合体 (SC) 染色法

银染植物 SC 的技术难点是制备染色体充分展开的标本。经过一些作者的试验，其技术流程可分为两类：对具薄壁花粉母细胞者，可采用动物 SC 标本的制片法，例如玉米和黑麦^[20,21]；另一类是具厚壁者，则用酶去壁的方法，例如番茄和马铃薯以及紫万年青^[73,74]，芍药^[44]，紫露草^[28]和圆头葱^[51]等。

现以 Stack^[74]制备紫万年青 SC 所创用的低渗胀破技术 (Hypotonic bursting technique) 为例，介绍如下：

(1) 将处于减数分裂前期的新鲜花药，放入凹形载片中，加以下培养液约 0.1 毫升：0.9mol 山梨醇，0.6mmol KH_2PO_4 ，1.0mmol CaCl_2 ，1.6mmol MgCl_2 ，以 10mmol 柠檬酸钾缓冲液 (pH 5.2) 配制，再加 0.3% 硫酸葡聚糖钾 (Potassium dextran sul-

fate, MW8000)。溶液的最终 pH 值以 0.1mol KOH 或 0.1mol HCl 调至 5.1。5 分钟后, 用刀片将花药横切开, 再处理 5 分钟。

(2) 用解剖针挤压花药使母细胞溢出, 去花药壁, 加约 1 毫克脱盐 β -葡萄糖苷酸酶 (β -glucuronidase), 3—5 分钟后, 细胞壁即被分解。

(3) 用微吸管吸取原生质体悬液, 滴在洁净的载片上或有塑料载膜的载片上(为电镜观察用), 加盖片。取约 5 微升蒸馏水, 缓缓从盖片一侧加入, 另一侧则用吸水纸引流, 使水从盖片下流过, 细胞膜膨胀炸裂, SC 从细胞中游离出来。

(4) 冰冻脱盖片, 空气干燥。

(5) 干燥后即新配制的 4% 甲醛(用硼酸缓冲液配制并调 pH 为 8.4—8.5) 在低温下固定 10 分钟, 浸入 4% Photoflo 200 (Kodak, pH 8.4—8.5) 中几秒钟, 稍干, 用 Ag-I 方法染色。

(6) 具载膜的载片上的银染 SC, 还可用于扫描电镜观察。其方法是, 先在低倍显微镜下对所选择观察的 SC 进行定位, 然后在其上复以 50 目的铜网, 在蒸馏水中漂离载膜铜网, 空气干燥, 喷碳后观察。

此外, Loidl 等^[51]简化了制备染色体标本的流程, 银染圆头葱 SC 的效果也很好。方法是将从花药中挤压出的花粉母细胞, 在以下溶液中处理 4—8 分钟(0.1 克蜗牛酶, 0.375 克聚乙烯吡咯烷酮, 即 PVP, MW. 40000, 和 0.25 克蔗糖, 溶于 25 毫升蒸馏水)。在另一洁净载片上加一滴低渗液(0.5% “Lipsol” 去污剂), 然后取一滴细胞悬液滴在低渗液上, 使 SC 展开, 干燥后, 以 50% AgNO_3 于 60°C 温育 40—60 分钟。

还值得一提的是, 一些作者^[11, 12, 17, 18, 60]在以显示轴心结构的银染方法处理减数分裂染色体时, 也可以同时显示典型的粗线期 SC。

4. 染色体轴心(Axial core)染色法

说来有趣, 银染染色体轴心是在一次很偶然的事件中发现的。Hsu T.C. (徐道觉) 曾给 Howell 一些赤鹿的染色体制片, Howell 用银染色之后, 发现染色单体中心有一深染的结构, 询之, Hus 的一位老资格的技术员 Linda 终于回忆起来, 原来这是一批低渗达 1 小时之久的过度低渗的制片, 随后, Howell 和 Hsu^[38]设计重复实验, 一些材料用 0.075mol KCl 处理 8—15 分钟, 另一些材料则处理 25 和 50 分钟, 然后用 Ag-As 方法染色。结果前者不显轴心而后者则显示出清晰的轴心结构。

此后, 又发展了多种银染轴心结构的技术, 不用过度低渗处理, 固定后的制片用稀 NaOH 或 HCl 处理^[60], 或用碱性硼酸缓冲液处理^[61], 或用热磷酸处理^[27], 或用 $2 \times \text{SSC}$ 盐溶液处理^[72], 或用 N-带技术^[59], 也都可以显示染色的轴心结构。

核仁和 NOR 的银染色原理

1. 银染物质的性质

一些作者^[7, 24, 34, 71]用 DNA 酶和 RNA 酶处理染色体或用三氯乙酸处理染色体^[7], 对银染 NOR 并无影响。此外, 用稀硫酸^[35], 稀盐酸^[71]处理, 以及用稀氢氧化钠或氢氧化

银按 c-带流程处理后,也同样可以进行银染色而显示 Ag-NOR^[47,48,70,78]。但用蛋白质水解酶处理,例如链霉菌蛋白酶(pronase)、胰酶或木瓜酶等,则不能显示 Ag-NOR^[7,24,84,84,71]。这些研究结果表明,银染物质不是 DNA 和 RNA 而是蛋白质,不是碱性蛋白,而是一种酸性蛋白。

2. 银染酸性蛋白成分

对银染蛋白的具体成分的研究工作很多,但不同作者所得结果并不完全一致,因此,仍是一个未解决的问题。组氨酸和巯基及二巯基曾被认为是银染成分之一^[7]。应用离子选择电极的研究发现,银离子能与半胱氨酸、胱氨酸、赖氨酸、蛋氨酸和精氨酸结合^[28]。但近年用细胞光度测量法研究则认为,巯基、二巯键、蛋氨酸和赖氨酸并不是银染成分^[42]。

用氯化钠提取银染蛋白的研究发现,该蛋白可由 0.15mol 氯化钠所提取,但不能为 2.0mol 氯化钠提取。用单一和连续的不同浓度的氯化钠提取核仁蛋白的悬浮液,再进行凝胶电泳分析,发现在这些提取物中有三种主要的银染蛋白,即 C₂₃, B₂₃ 和一种叫“Ag-NOR 蛋白”^[40]。但选择其中两种主要的酸性磷酸蛋白 C₂₃ 和 B₂₃ 进行研究,用抗 C₂₃ 和 B₂₃ 的抗体测定结果,认为分布于核仁和染色体 NOR 中的银染成分是 C₂₃ 而不是 B₂₃^[49,58]。有人进一步研究认为,这些磷酸化蛋白中的磷酸丝氨酸和磷酸苏氨酸可能是银染成分之一^[65]。

3. 银染色与核糖体基因的活动

在细胞周期的银染研究中,已注意到间期的 G₂ 和有丝分裂的早前期, rDNA 的转录活性强,银染色区和强度也高于中、后期的 Ag-NOR,这说明银染物的多少或强弱,是与 rDNA 的转录活性呈正相关的^[70]。

对人和小鼠的杂交细胞,小鼠和金黄地鼠的杂交细胞^[9,54,55]以及同步培养的 HeLa 细胞系的银染研究^[41]也表明,银染色与 rRNA 的合成是平行的。

当用 rRNA 合成的不可逆的抑制剂——低浓度放线菌素 D 处理细胞,与对照比较,银染物明显减少^[30,33,41]。用可逆的 rRNA 合成的抑制剂——2-巯基 1-(2-(4-吡啶)-乙基)-苯并咪唑(MPB)处理细胞,将抑制核仁的银染色,除去 MPB 之后,核仁的银染色便很快得以恢复^[41]。综上所述,银染色确实是与 rRNA 的合成活动密切相关的。

早期的观察认为,银染物是沉积在 NOR 的外围,这是 rDNA 转录活动的产物, rDNA 自身是不染色的^[70]。这显然存在一个矛盾,因为已知有丝分裂中期染色体的 NOR 是停止合成 rRNA 的^[13,38]。那么, NOR 又何以能为银染色呢?再者,近年一些作者的电镜研究发现,即使用抑制剂抑制核仁中 rRNA 的合成活动后,也不能完全废除银染色,具银染颗粒的总量是与中期染色体 NOR 的银染量大致相近的^[31,64]。因此, rDNA 自身不能为银染色的结论便值得怀疑了。Medina 等^[52,53]先后对洋葱根尖细胞的核仁周期,进行了银染色的电镜切片观察。在间期核仁中,银粒主要沉积在最邻近纤维中心的密集的纤维成分中,纤维中心中的不浓缩的染色质纤维也可为银染色。在有丝分裂中的中期 NOR,不浓缩的染色质也能为银染色,此外,后期和末期中的前核仁物质也能染

色。据此,他认为有两种不同的蛋白质或蛋白质组能为银染色;一种是与 NOR 染色质结合的蛋白(它们不包含在有丝分裂的前核仁物质中);另一种是早期的核糖体前体(它们从不出现在纤维中心)。所以,Ag-NOR 所显示的或者是具转录活动的或者是具潜在转录活动的染色质,这种染色质不管它们是否处于转录状态,都是非螺旋化的伸展结构,都能为银染色。

在细胞学和细胞遗传学研究中的应用

银染技术在人及动物染色体的研究中已广为应用^[3]。以下着重介绍在植物染色体研究中的应用概况。

1. NOR 的数目、位置和变异

在核型的比较研究中, NOR 的数目和位置的差异,是一个十分重要的细胞学特征,尤其是对某些染色体数目相同形态也近似的植物来说,则更是如此。大量研究已证明,银染 NOR 的特异性和可重复性均比其他染色方法为高,定位定性准确,是目前研究核仁和 NOR 的结构和行为的主要染色技术。例如,豌豆染色体的 NOR 数目和位置,是一个长期争议未决的问题。银染色证明,豌豆具有 2 对(第 4 和第 7) NOR,而且均位于长臂的近端部^[47]。水稻亦然。银染色的定量研究表明,在二倍体品种中,既有具 1 对也有具 2 对 NOR 的^[4]。更引人注目的是普通小麦,用常规方法以及用 C-带和 N-带技术染色,均只显示有 2 对随体或 NOR,位于 1B 和 6B 染色体上。但是用银染色后仔细观察发现,共有 2 对具强功能的 NOR,即 1B 和 6B,此外还有 2 对具弱功能的 NOR,即 1A 和 5D。它们的强弱(银染强度)等级顺序是 $6B > 1B > 5D > 1A$ ^[6]。这是过去从未报道过的新发现。

NOR 的杂合性和多态现象是常见的,过去曾有过多种有关这类变异的解释。但对洋葱、葱及其种间杂种珠芽洋葱(*Allium cepa* var. *viviparum*)的 Ag-NOR 研究^[67]发现,在种内或在杂种内,Ag-NOR 的大小,数目和位置都有变异,综合这些变异情况,用 NOR 的显、隐性机制或 NOR 区段的互换等机制都难以解释。进一步用分子原位杂交技术对上述植物进行研究,所得结果是基本上一致的^[68]。据此提出了所谓“NOR 流动学说”,认为可能 NOR 会在这类植物染色体的端部异染色质之间跳动(jumping)。这种跳动转位现象,具有功能上的和进化的意义。

2. NOR 在种间杂种中的竞争

两位作者^[8,46]分别对小麦、黑麦、小黑麦以及小麦-黑麦附加系和替换系的染色体进行了 Ag-NOR 研究。这些研究材料的染色体组包括 ABD、R、ABDR、AABBDDRR、AABBDR、ABDR + 5D、ABRR、ABRRR 等,发现无论在任何一种情况下,只要有小麦染色体的 NOR 存在,黑麦 1R 上的 NOR 都将受到抑制,银染为负反应。但是,在其他种间杂种中并非都表现出这种亲本 NOR 的显、隐性现象,例如,对 *Lilium hrneyi* 和 *L. speciosum* 及其杂交种 *L. cv. "Black Beauty"* 的 Ag-NOR 研究表明,两亲本的

NOR在杂交种中均能显示^[43]。上述洋葱和葱的杂交种亦然。目前, 这类研究的资料不多, 这种现象与杂交种的表型以及稳定性是否有某种相关性, 是一个值得探讨的问题。

3. 核仁周期的研究

银染研究洋葱根尖细胞的核仁周期^[22]表明, 在早末期的染色体臂上, 首先出现小的银染颗粒, 称之为前核仁体 (prenucleolar bodies), 标志核仁发生的开始。末期, 核仁在NOR发育, 聚积核仁物质。晚末期, 核仁明显增大, 但在核中仍有分散的前核仁体。两个子细胞形成时, 前核仁体完全消失, 核仁发育成熟。但是在低氧条件下, 中期的持续时间会延长, 在后期即可见到前核仁体出现, 并在NOR发育核仁。作者认为这种在正常和低氧条件下核仁形成时间上的差异, 可能与能量的供应和代谢活动的改变有关。

此外, 银染洋葱根尖细胞的核仁周期的电镜观察^[52, 53]认为, 间期核仁的典型结构是由三部分组成的, 即纤维中心、纤维成分和纤维成分周围的颗粒成分。最邻近纤维中心的纤维成分为银染的主要部分。在有丝分裂中期, NOR的不浓缩的染色质为银染主要部分, 即使以高浓度的放线菌酮(CHM)处理而抑制了94%的蛋白质的合成, 也不会改变它的结构和银染特性。

以上作者的研究都说明, 核仁物质在分裂前期解体后, 是分布或包埋在染色体中, 而不是分散至细胞质中, 至末期开始在染色体上出现前核仁体并由NOR组织成新核仁。

4. 联会复合体(SC)的研究

有关人和动物SC的研究, 已有简略的综述^[2, 5]。关于植物SC的研究, 则未见到专门的论述, 根据不完全的资料, 概括起来, 主要有以下几方面的工作。

4.1. 银染SC技术

植物SC的研究起步晚, 研究的材料也远不及动物广泛, 这其中的一个主要制约因素就是因为植物细胞有细胞壁, 制备染色体标本比动物繁复而困难。所以, 在研究植物SC时, 制片技术本身常常成为研究的一部分内容。Stack^[73]对此曾进行过专题研究。经过多种实验和改进, 发现具薄壁花粉母细胞的材料, 可基本上采用动物SC的制片方法^[20, 21, 28, 29], 具厚壁者则需用不同酶解去壁的制片方法^[51, 73, 74]。

4.2. 核型分析

Gillies^[20, 21]分别对玉米和黑麦的SC进行了核型分析, 从SC的绝对长度, 相对长度和臂比值的计算值来看, 与根尖细胞染色体的核型分析结果是基本上一致的。SC的核型分析的价值在于可以对减数分裂过程中染色体的结构变异, 进行比较准确的定位和分析。对玉米臂内倒位, 相互易位以及断点的定位分析就是很好的例子。

4.3. SC的结构变异

在紫露草的SC的联会与不联会的侧生成分上, 尤其是在二者的交界处, 发现一些随机分布的不均匀加厚的结构, 它们既不是着丝点, 也不是重组节。这是在其他生物SC中未见到的一种特殊结构^[28, 29]。此外, 在芍药的SC研究中, 也发现了一种新类型

的多聚复合体 (polycomplex) [44]。

4.4. 联会的启动方式

对一种紫露草 (*Tradescantia ohiensis* var. *paludosa*) SC 的银染研究发现^[28], 其 SC 的联会的起始位点并不是固定的, 也不是从端粒开始以拉练式的方式联会的, 而是同时从 SC 的整个纵长轴上的不同位点开始的。每核约有 251—299 个联会起始点, 每点之间的距离平均为 7.3—11.2 微米。在黑麦中则稍有不同^[21], 联会首先从端粒开始, 然后才多位点启动联会, 每核平均约有 160 个位点。早期对百合的 SC 研究也与此类似。可能多位点启动联会是植物 SC 形成的主要方式。

4.5. 联会的异常现象

在三倍体圆头葱 (*Allium sphaerocephalum*) SC 的银染研究中^[51], 发现三个同源的侧生成分中, 只有两个完全联会, 另一个则纵向相伴至全长, 但是它有一些吸附点与二价的 SC 相连接, 每一个这种不联会的侧生成分约有 50 个这种吸附点, 其分布是不均匀的。到了粗线期的后期, 这些吸附的结构与二价 SC 分离, 未联会的侧生成分游离, 但它也可以连接到各种类型的非同源的 SC 上去。

在紫露草的 SC 中, 经常发现有回折 (foldback) 联会的片段。Hasenkampf^[23,29]根据回折联会和多位点启动联会等现象, 推测在 SC 的形成过程中, “同源识别”的过程并不是必需的, 认为同源联会通常是伴随 Zyg-DNA 合成的时空调整而进行的。

5. 染色体轴心 (Axial core) 的研究

有关真核生物的染色体结构, 有多种模型, 其中的“轴心模型”认为, 染色体内部有一中心轴。但支持这一模型的证据, 以往主要来源于对分离的中期染色体的电镜观察和生化分析的资料。Howell 等^[38]首次以银染色方法在光学显微镜下, 观察到人和几种哺乳动物染色体的轴心结构, 它位于每个染色单体的纵轴中心, 为银所深染。用 DNA 酶和 RNA 酶处理, 对轴心结构无影响, 但用胰酶处理则将破坏轴心结构, 说明轴心的成分是蛋白质。进一步的研究表明这是一种酸性蛋白^[86]。轴心结构不但普遍存在于有丝分裂的染色体中, 而且也存在于减数分裂的染色体中^[19,63,72]。但在具散漫着丝点的染色体的 *Nysius thymi* 中, 轴心结构在有丝分裂和减数分裂染色体中的位置是不同的^[87]。染色体经特殊的预处理后用银染色, 可显示出轴心为一螺旋结构^[28]。综上所述, 一般认为染色体的轴心结构是真实存在的。但是仍有不同的观点, 一些作者认为这是染色体处理过程中, 染色单体不均匀的解离和染色质不正常集结而产生的假象^[6,26,68]。

6. 核基质网络 (network) 结构

Ghosh 等^[19]对洋葱根尖和鳞茎组织的细胞核和染色体进行了银染色研究, 证明植物细胞核与动物细胞核一样, 存在一种纤维状的非染色质的网络结构。在有丝分裂中, 它附着于染色体之外沿。用胃蛋白酶处理后则网络被分解。生物化学分析表明, 这种网络的主要成分 (90% 以上) 是蛋白质, 此外, 还有少量 DNA 和 RNA。

参 考 文 献

- 1 李子先等. 植物学通报, 1986; 3(6): 54—55
- 2 李懋学等. 生物学通报, 1986; 9: 13—15
- 3 施立明. 动物学研究, 增刊, 1984; 5(1): 1—13
- 4 潘坤清等. 遗传学报, 1984; 11(5): 355—360
- 5 Bloom S E et al. *Hum Genet*, 1976; 34: 199—206
- 6 Burkholder G D et al. *Can J Genet Cytol*, 1982; 24: 193—199
- 7 Buys C H C M et al. *Chromosoma*, 1980; 77: 1—11
- 8 Cermeno M C et al. *Chromosoma*, 1984; 89: 370—376
- 9 Croce C M et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1977; 74: 694—697
- 10 Denton T E et al. *Stain Tech*, 1977; 52(6): 311—313
- 11 Dresser M E et al. *Exp Cell Res*, 1979; 121: 416—419
- 12 Dresser M E et al. *Chromosoma*, 1980; 76: 1—22
- 13 Fan H et al. *J Mol Biol*, 1971; 59: 27—42
- 14 Fernandez-Camez E et al. *Stain Tech*, 1969; 44(1): 48—49
- 15 Fernandez-Camez E et al. *Cell Mol Biol*, 1983; 29: 181—187
- 16 Fernandez-Piqueras J et al. *Chromosoma*, 1982; 85: 707—711
- 17 Fletcher J M. *Chromosoma*, 1979; 72: 241—248
- 18 Forejt J et al. *Chromosoma*, 1979; 72: 255—261
- 19 Ghosh S et al. *Chromosoma*, 1986; 93: 429—434
- 20 Gillies C B. *Chromosoma*, 1981; 83: 575—591
- 21 Gillies C B. *Chromosoma*, 1985; 92: 165—175
- 22 Gimenez-Abian M I et al. *Protoplasma*, 1984; 126: 47—53
- 23 Gold J R et al. *Stain Tech*, 1982; 58(1): 51—55
- 24 Goodpasture C et al. *Chromosoma*, 1975; 53: 37—50
- 25 Goyanes V J et al. *Chromosoma Today*, 1984; 8: 309
- 26 Gruen L G. *Biochem Biophys Acta*, 1975; 386: 270—274
- 27 Haapala O. *Hereditas*, 1985; 103: 23—31
- 28 Hasenkampf C A. *Chromosoma*, 1984; 90: 285—288
- 29 Hasenkampf C A. *Chromosoma*, 1984; 90: 275—284
- 30 Hasmann J et al. *Exp cell Res*, 1978; 114: 263—268
- 31 Hernandez-Verdun D. *J Ultrastruct Res*, 1984; 88: 55—65
- 32 Hizume M et al. *Stain Tech*, 1980; 55: 87—90
- 33 Hofgartner F J et al. *Hum Genet*, 1979; 47: 329—333
- 34 Howell W M et al. *Experientia*, 1975; 31: 260—262
- 35 Howell W M et al. *Chromosoma*, 1977; 65: 9—20
- 36 Howell W M et al. *Chromosoma*, 1979; 73: 61—66
- 37 Howell W M et al. *Experientia*, 1980; 36: 1014—1015
- 38 Hsu T C et al. *J Cell Biol*, 1965; 26: 539—553
- 39 Hsu T C et al. *Chromosoma*, 1975; 53: 25—36
- 40 Hubble H R et al. *Cell Biol Int Rep*, 1979; 3: 615—622
- 41 Hubble H R et al. *Exp Cell Res*, 1980; 129: 139—147
- 42 Hubble H R. *Stain Tech*, 1985; 60(5): 235—294
- 43 Kalm L et al. *Exp Cell Res*, 1984; 129: 481—485
- 44 Kehlhfner C A et al. *Chromosoma*, 1983; 89: 167—170
- 45 Kodama Y et al. *Japon J Hum Genet*, 1980; 25: 229—233
- 46 Lacadena J R et al. *Theor Appl Genet*, 1984; 67: 207—213
- 47 Lamm R. *Hereditas*, 1981; 94: 45—52
- 48 Lau Y F et al. In "Aspects of Chromosome Organization and Function, 1977; 49—53
- 49 Lischwe M A et al. *Life Sci*, 1979; 25: 701—708
- 50 Lischwe M A et al. *Exp Cell Res*, 1981; 136: 101—109

- 51 Loidl J et al. *Chromosoma*, 1986; 93: 420—428
- 52 Medina F J et al. *Chromosoma*, 1983; 88: 149—155
- 53 Medina F J et al. *Chromosoma*, 1983; 94: 259—266
- 54 Miller D J et al. *Exp Cell Res*, 1976; 101: 235—243
- 55 Miller D J et al. *Exp Cell Res*, 1978; 115: 457—460
- 56 Nokkala S et al. *Hereditas*, 1984; 100: 61—65
- 57 Nokkala S et al. *Hereditas*, 1985; 103: 107—110
- 58 Ochs R et al. *Exp Cell Res*, 1980; 146: 139—149
- 59 Okada T A et al. *Amer J Hum Genet*, 1980; 32: 814—832
- 60 Pathak S et al. *Chromosoma*, 1979; 70: 194—203
- 61 Pathak S et al. *Hum Genet*, 1980; 54: 171—175
- 62 Roju C R. *Stain Tech*, 1983; 57(1): 55
- 63 Rufas J F et al. *Genetica*, 1983; 61: 233—238
- 64 Sanchez-Pina M A et al. *Biol Cell*, 1984; 50: 199—202
- 65 Satoh K et al. *Cell Biol Int Rep*, 1981; 5: 857—866
- 66 Satya3Prakash K L. *Chromosoma*, 1980; 81: 1—8
- 67 Schubert I' *Pl Syat Evol*, 1984; 132: 27—51
- 68 Schubert I et al. *Chromosoma*, 1985; 92: 143—148
- 69 Schweizer D et al. *Pl Syat Evol*, 1979; 132: 27—51
- 70 Schwerzacher H G et al. *Chromosoma Today*, 1977; 6: 45—50
- 71 Schwerzacher H G et al. *Cytogenet Cell Genet*, 1978; 20: 24—39
- 72 Sentis C et al. *Chromosoma*, 1984; 90: 317—321
- 73 Stack S. *Stain Tech*, 1982; 57(5): 265—271
- 74 Stack S et al. *Chromosoma*, 1984; 90: 72—83
- 75 Tanaka R et al. *Japon J Genet*, 1982; 57: 65—73
- 76 Tantravahi R et al. *Cytogenet Cell Genet*, 1977; 57: 364—369
- 77 Thiebaut F et al. *Stain Tech*, 1984; 59(3): 181—185
- 78 Tuck-Muller C M et al. *Stain Tech*, 1984; 59(5): 265—268