

# 目 录

序言	v
第一章 植物细胞的细胞周期	1
一、关于细胞周期的概念	1
二、细胞周期各时期的特点	3
三、细胞周期及其各时期的持续时间	7
四、细胞周期的基本事实和异常的细胞周期	9
五、细胞周期的控制	19
第二章 染色体结构与染色体组型分析	23
一、染色体的形态和结构	24
二、染色质的结构	26
三、染色体组与染色体组型分析	35
第三章 植物染色体的常规压片技术	42
一、取材	43
二、预处理	51
三、固定	60
四、解离	62
五、染色	63
六、压片操作	82
七、镜检及永久封片	83
八、减数分裂材料的染色与压片	84
九、培养细胞的染色体制片方法	86
十、制片过程中出现的问题和可能的原因	87

附表表 一些经济植物的染色体数目及预处理参考条件	91
第四章 植物染色体标本制备的新方法——去壁低渗法 及其在细胞学中的应用	99
一、去壁低渗法的步骤	100
二、去壁低渗法的优点及其在细胞学中的应用	103
第五章 染色体分带研究概况	115
一、染色体分带的意义	115
二、染色体分带的发明	115
三、染色带的类型	117
四、植物染色体分带研究简况	120
第六章 植物染色体分带技术	125
一、Giemsa(吉姆沙)分带技术	126
二、荧光分带技术	134
三、植物染色体带型分析	135
第七章 分带技术在植物遗传学与细胞学中的应用	145
一、核型分析	145
二、亲缘关系鉴定	149
三、远缘杂种与染色体工程中的细胞学鉴定	151
四、间期核“染色中心”的研究	154
五、体细胞染色体联合	157
六、异染色质在染色体配对中的作用	158
第八章 染色体的分带机制	160
一、人类和动物染色体的分带机制	160
二、植物染色体分带机制	166
第九章 显微摄影技术	170
一、显微摄影对制片标本的要求	171
二、选用优质接物镜和接目镜	173

三、光路合轴和光阑调整 .....	181
四、选用适宜的感光胶片 .....	187
五、滤色镜的选用 .....	190
六、拍摄 .....	193

# 第一章 植物细胞的细胞周期

朱 激

众所周知，植物染色体只有在细胞分裂时才出现和可以被看到，因此染色体的出现和细胞分裂是密切联系的。现在已经清楚地认识不论是有丝分裂或减数分裂只是细胞增殖全部过程的一个时期，在分裂间期的核中还发生着对染色体形成必不可少的重要事态。从一次细胞分裂到另一次细胞分裂之间细胞所经历的全部过程称为细胞周期。为了使我们对染色体的形成和活动有一个全面的了解，首先介绍一下植物细胞的细胞周期的有关问题，作为我们研究染色体和掌握染色体技术的一个基础。

## 一、关于细胞周期的概念

细胞的自我复制是细胞的一个基本特征。早期对细胞的增殖的观察限于研究细胞分裂。1944年艾弗里(Avery)显示肺炎球菌的致病性是由DNA传递的，从而认识了DNA是基因的物质基础。后来斯威夫特(Swift)(1950)用孚尔根分光光度术证明DNA复制并不是有丝分裂时开始的，而是

发生在间期。因此间期并不是一个代谢不活跃的静止期。细胞增殖包括两个基本事实：一是有丝分裂，另一个是有丝分裂前必需进行的 DNA 的合成。霍华德 (Howard) 和皮尔 (Pelc) (1953) 用放射自显影技术研究了蚕豆根尖细胞的分裂，证明 DNA 的合成只在间期的特定时期进行。在 DNA 合成时期的前后各有一个“间隙” (Gap) 时期。他们提出了“细胞周期”这个概念，并把细胞周期划分为  $G_1$  (DNA 合成前的准备时期)、S (DNA 合成时期)、 $G_2$  (有丝分裂前的准备时期) 和 M (有丝分裂时期) 四个时期。当核分裂后接着完成胞质分裂和形成两个子细胞时，细胞又回复到  $G_1$  时期，然后重复细胞周期的过程 (图 1-1)。

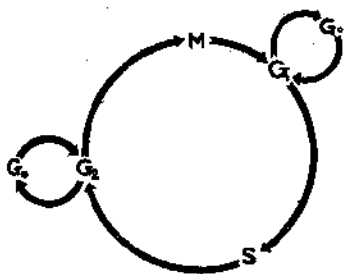


图 1-1 细胞周期的图解，图示所经历各个时期和在  $G_1$  及  $G_2$  时期细胞都可脱离周期进入  $G_0$  状态

关于细胞周期的知识近 20 年来有了很大的发展，这是由于在细胞周期的研究中应用了下列三个重要的技术的结果：  
(1) 在细胞培养中发展了诱导同步分裂的方法，打开了利用细胞周期不同时期的材料进行生化分析的途径；(2) 在特殊染色

反应后对细胞核中 DNA 含量的显微分光光度术的定量测定技术的应用；(3)引进了用胸苷标记的放射自显影技术。

必须强调指出，细胞周期的概念不仅把间期划分为更详细的时期，更重要的它是一个周期间的过程。真核生物细胞的生长和繁殖包括所有原生质成分的复制。细胞复制的结果，在植物细胞中细胞质为质膜和细胞壁所分隔，因此，胞质分裂为细胞周期提供了一个划分的标志。在此之前，所有细胞成分的复制和分离必需完成；在此之后，复制事态的新的周期才能开始，即细胞后代又回复到开始时的状态。如此周而复始，循环不息。在这一点上，在细胞周期中的细胞和在分化中的细胞不同。分化中的细胞是按直线程序变化的，直至最后死亡。在非增殖情况下的细胞处于既非  $G_1$ ，又不是  $G_2$  的代谢特点中，其代谢特点并不导致细胞的复制。细胞的这种状态有些作者以  $G_0$  表示，即细胞从细胞周期中脱离出来，进行另一途径的发展。如果细胞在  $G_1$  时期脱离周期，则  $G_0$  时的细胞 DNA 未复制；如果细胞在  $G_2$  时期脱离周期，则细胞的 DNA 量已加倍（图 1-1）。 $G_0$  状态的细胞可以进行各种分化，可在不定长的时间内，几天，几月，甚至几年维持  $G_0$  状态。 $G_0$  状态的细胞在一定条件下仍可回复到周期中，继续进行细胞周期的过程。

## 二、细胞周期各时期的特点

1.  $G_1$  时期 即 DNA 合成的准备时期，是细胞周期中

最有变化的时期。细胞分裂的速度愈快，这时期愈短。在某些细胞中  $G_1$  可以缺少，而在另一些细胞周期很长的细胞中  $G_1$  可以经历很长的持续时间。在  $G_1$  时期，DNA 合成还未开始，因此核的 DNA 含量保持在原来二倍体细胞的量，以  $2C$  表示。此时是 DNA 的相对含量。所有 RNA 种类的合成是从  $G_1$  开始到间期结束都在进行，是同时的和连续合成的。在  $G_1$  早期 rRNA 合成的突然开始的结果，导致核仁体积开始增大。因为在  $G_1$  决定细胞再分裂或进入分化， $G_1$  细胞在合成上是极活跃的。在进入细胞周期和将进行 DNA 复制的核中，最初的复制需要蛋白质，以提供所需要的生物合成的酶和某种可能的“启动蛋白”及其他蛋白。 $G_1$  时期合成的蛋白质大量累积在细胞质中，因此常常可以看到核还未被细胞质的蛋白质所包围前，DNA 的合成是并不开始的。

2. S 时期 代表 DNA 合成时期。根据  $^3H$ -胸苷处理后的培养细胞电镜的放射自显影观察，S 期开始后放射性活性限于核内膜和核仁周围。因此认为 DNA 复制是由核膜开始的。更近的研究显示新合成的 DNA 结合在核膜上。一旦 DNA 合成开始，DNA 的合成能在染色体水平上研究。即用  $^3H$ -胸苷处理分裂细胞后，不同时期收集中期染色体进行放射自显影观察。虽然观察的是 M 期的染色体，但反映了发生在 S 期的 DNA 复制的次序。直到最近才了解清楚染色体含有许多 DNA 复制单位，许多复制单位同时进行复制，是非同步的。这一点在许多材料中得到了证明。因此，在 S 时期核的 DNA 含量变动于  $2C-4C$  之间(图 1-2)。

在真核生物中会提出这样的问题：每个染色体包含多于一个 DNA 分子还是只有一个 DNA 分子。这是一个有争论的问题，但涉及到染色体的基本结构。对果蝇四个种的染色体的研究，证明 DNA 分子必需通过整个染色体，不能在着丝粒处中断。应用一些新技术，现在已能显示一个 DNA 分子的大小和一个染色体中 DNA 分子相当的，即分子量在  $20 \times 10^9$  到  $80 \times 10^9$  之间。因此现在倾向于认为一个染色体中只存在一个 DNA 分子。

因为 DNA 的复制是非同步的，所以在 S 期 RNA 的合成继续在进行。但一般认为在复制中的 DNA 片断是不转录的。活跃蛋白质合成也在 S 期进行，提供 DNA 合成本身所需要的酶和构成染色体所要的蛋白质，由细胞显微分光光度术、放射自显影和生化分析，在许多动植物材料中显示组蛋白的合成是和 DNA 复制协同发生的。因此随着 DNA 加倍，组蛋白也加倍。组蛋白在细胞质内合成，然后转移到核内和新合成的 DNA 结合。象其他核蛋白一样，染色体的酸性蛋白也在细胞质中合成，它们一般和 DNA 合成没有相关性。

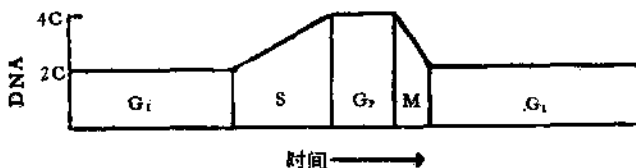


图 1-2 细胞周期中 DNA 相对含量的变化规律

3.  $G_2$  时期 即有丝分裂的准备时期。这一时期因 DNA



复制已完成，DNA 的含量稳定在  $4C$  水平（图 1-2）。蛋白质的合成在  $G_2$  时期继续进行，但这一时期所得到的蛋白质谱和前一时期十分不同。同时与有丝分裂时染色体螺旋化有关的蛋白和组成纺锤体的微管蛋白可能在  $G_2$  时形成。在  $G_2$ -早前期过渡时开始形成微管。

**4. M 时期** 即有丝分裂时期。当核进入有丝分裂时染色体开始凝集，直至形成。在光学显微镜下可以一个个区分的染色体。根据染色体的行为 M 期可以再划分为前期、中期、后期和末期。前期是形成染色体的时期。当染色体形成后核膜和核仁也同时消失。中期是染色体成对地排列在赤道面上，并出现纺锤体的时期。中期染色体凝集至最高度，呈现最典型的染色体形态。此时可以看到每个染色体由两个染色单体所组成，但在着丝点处仍是相连的。后期是染色单体被分别牵引至细胞两极的时期。末期是染色体重新松解，形成两个新的子核，并为质膜和细胞壁分隔成两个细胞。在整个 M 期中，对每个细胞来说的 DNA 的相对含量从  $4C$  水平改变为  $2C$  水平（图 1-2）。因为从 S 期到 M 期组蛋白与 DNA 含量的比例实际上保持不变，而酸性蛋白从 S 期到 M 期相对地增加约 2.5 倍，因此相信某些酸性蛋白必然与染色体的凝集有关，而某些组蛋白可能也参与这过程。由于染色体凝集转录活性异常降低，在晚前期到晚后期和早末期之间不发生转录，即 RNA 的合成停止。蛋白质的合成也减少 60—70%，细胞质多聚核蛋白体大部解体。

在整个细胞周期中染色体至少表现出有三种不同的活

动；(1)自我复制；(2)转录和转移遗传信息到细胞的其他部分；(3)由于 DNA 复制时需要松解，而便于染色单体的分离时又需要凝集，在细胞周期中染色体发生螺旋化的凝集和解螺旋化的松解的周期性变化。

### 三、细胞周期及其各时期的持续时间

细胞周期及其各时期所经历的时间(即持续时间)的知识对研究细胞生物学的许多问题都有重要的意义，特别是对研究染色体时，有一定参考价值。研究细胞周期持续时间最有效的方法是用  $^3\text{H}$ -胸苷标记有丝分裂细胞的技术。这技术基于用  $^3\text{H}$ -胸苷开始标记材料后，在不同间隔时间内固定材料，统计被标记的有丝分裂细胞数，以计算总周期时间及其各时期的时间。

高等植物二倍体植物种的细胞周期的持续时间和核内 DNA 含量的多少有简单的相关性。一般而言，植物种的细胞内 DNA 含量愈高细胞周期的时间愈长(表 1-1)。这种随 DNA 含量的变化而影响到细胞周期持续时间的长短，主要决定于 S 期的持续时间。这是合乎逻辑的，DNA 含量愈高，用于复制的时间也愈多。但同一种植物细胞的倍数不同，在细胞周期的持续时间上却并无明显的差异。例如二倍体大麦(2n)和四倍体大麦(4n)在  $25^{\circ}\text{C}$  温度下前者为 10.4 小时，后者为 11.4 小时。这说明细胞染色体数目加倍后，每个染色体 DNA 合成的速度基本上是不变的。

植物细胞周期的持续时间一般在十几小时至几十小时之间，其中S期最长，M期最短，G<sub>1</sub>和G<sub>2</sub>期变动较大。例如上述二倍体大麦细胞周期为10.4小时，其中G<sub>1</sub>为1.9小时，S为4.5小时，G<sub>2</sub>为3.0小时，M为1.0小时。植物的生长条件，特别是温度，对细胞周期的时间是十分敏感的。例如向日葵根尖分生组织细胞在25°C时总时间只需7.8小时，但在20°C是12.5小时，15°C是23.2小时，10°C时则延长至46.4小时。由此可见，在说明细胞周期所经历的时间时，必需表明实验材料的生长温度。下面列举一些常见植物细胞周期的持续时间(表1-1)。

表 1-1 一些高等植物分生组织细胞的2C-DNA含量及细胞周期的持续时间(小时)

植物种	2C-DNA pg* (DNA含量)	持续时间(小时)					温度(°C)
		总周期	G <sub>1</sub>	S	G <sub>2</sub>	M	
洋葱	11.7	12.8	1.5	6.5	2.4	2.3	24
大葱	25.1	18.8	2.5	10.3	—6.0—		23
韭菜	34.8	20.6	0—2.5	11.8	—7.5—9.5—		23
向日葵	6.3	7.8	1.2	4.5	1.5	0.6	25
大麦(二倍体)	13.3	10.4	1.9	4.5	3.0	1.0	25
大麦(四倍体)	—	11.4	1.3	5.8	3.2	1.1	25
西葫芦	5.6	9.1	1.0	4.4	2.3	1.5	30
番茄	5.1	10.6	1.8	4.3	—4.5—		23
豌豆	7.9	14.0	5.0	4.5	3.0	1.2	23
黑麦	18.9	11.7	1.0	6.0	—4.7—		20
普通小麦	36.1	14.0	0.8	10.0	2.0	1.2	23
蚕豆	24.3	18.0	4.0	9.0	3.5	1.9	23
玉米	11.0	10.5	0.5	4.3	—5.7—		20

\*pg = 10<sup>-13</sup>克

从细胞周期各时期所消费的时间来看有丝分裂在整个细胞周期中所占的时间是很短的,一般仅一小时左右,约为总周期的十分之一。这就是为什么在细胞分裂十分活跃的根的分生组织中所看的有丝分裂相也是很少的原因。在有丝分裂中,前期较长,中期、后期、末期都较短(表 1-2)。中期的持续时间也仅占有丝分裂总时间的十分之一左右。假使以细胞周期总时间来算,仅占百分之一左右。这就是为什么我们在根尖细胞中要找到中期分裂相的机会更少的原因。

表 1-2 一些被子植物有丝分裂的持续时间(分)

植 物	总 时 间	前 期	中 期	后 期	末 期
洋葱根尖	83.7	71.0	6.5	2.4	3.8
豌豆根尖	109.8	78.0	14.4	4.2	13.2
黑麦根尖	76—110	36—45	7—10	3—50	30—50
紫露草雄蕊毛	128	103	14	6	15
燕麦草柱头	78—110	36—45	7—10	15—20	20—35
豇豆胚乳	182	40	20	12	110
鸚尾胚乳	102—182	40—65	10—30	12—22	40—75

#### 四、细胞周期的基本事态 和异常的细胞周期

在细胞周期中最基本的事态包括 DNA 的复制、染色丝的构成、染色单体的构成、染色体的构成、核复制、细胞复制这几个顺序的过程(图 1-3)。DNA 复制是分子的事态,在光学显微镜下是看不到的,只有用特殊的方法才能测出。染色丝

的出现实际上是细长的 DNA—组蛋白复合结构螺旋化凝集的结果。这种凝集直到单个结构在光学显微镜下变为可见时

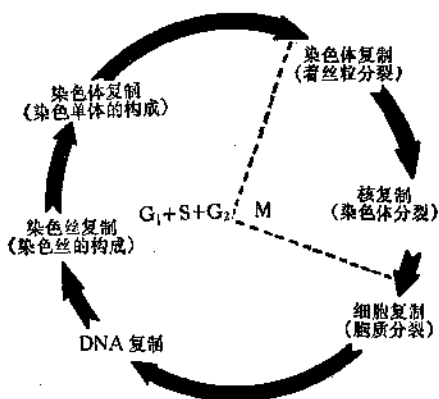


图 1-3 细胞周期中的基本事态

即认为是染色丝。当染色丝进一步收缩,形成染色体时,可以明显地看到每个染色体是由两个单位,即两个染色单体所组成,但着丝粒还未分开,这便是染色单体的构成时期。这种染色体的形态在中期最明显。此时,由微管组成的纺锤丝从一端和在结构上已是成双的着丝粒连接,从纺锤体另一端伸出的纺锤丝和染色体的另一侧也和着丝粒连接。核膜和核仁消失。从有丝分裂中期至后期着丝粒分裂,两个染色单体在各自的纺锤丝的牵引下分离和被移至纺锤体的两极,染色体的复制完成。从后期进入末期,两群分离的染色体组分别重新形成新核,染色体解螺旋化,出现核仁和又被核膜所包围。这时核的复制完成。最后,在两个新核之间早已出现的成膜

体的位置形成新的质膜和细胞壁，分隔为两个新的细胞，完成细胞的复制。这是一个典型的细胞周期的情况。

在一个细胞群体中，如根尖的分生组织细胞中，染色体组在形态上和遗传上并不一定是相同的。常常可以看到有染色体倍性的加倍或减半的细胞。这种细胞的继续增殖可以形成在倍性上不同的细胞系。这种变异的细胞的产生是由于一个或更多的细胞周期中的基本步骤被简略的结果。这在我们研究染色体时也是经常可以遇到和必需注意的问题。下面列举一些最常见的异常的细胞周期的情况。

1. 核加倍 多核细胞 (Coenocytes)，当一个细胞周期中的胞质分裂被抑制，但细胞周期的其他步骤继续时，结果形成一个双核细胞(图 1-4)。如果胞质分裂的抑制在细胞周期中重复几次，则会形成多核细胞。双核和多核细胞常常在组织培养物中发生，在被子植物的植物体内，如绒毡层、乳汁管、形成过程中的木质部导管和雌雄配子体中可以看到，突出的例子是游离核时期的胚乳，可以连续十次这样的简略的细胞周期，形成上千个游离核。

2. 核加倍 多倍性 (Polyploidy)，在植物细胞中，核加倍最普通的类型是多倍性，是由于细胞周期中抑制了胞质分裂和核的复制而产生的(图 1-5)。即染色体已复制和分离，但并不形成两个新的核，仍形成一个核，这样形成的细胞染色体倍性就加倍了。如果核加倍后能回复正常的细胞周期，则可由染色体的数目显示细胞的多倍性。这种情况常见于经秋水仙素处理所产生的多倍性细胞中。如果核加倍后细胞

不再分裂，染色丝在间期核中没有收缩和变为可见的染色体，则多倍性只能由 DNA 的量、核的体积或染色中心的数目

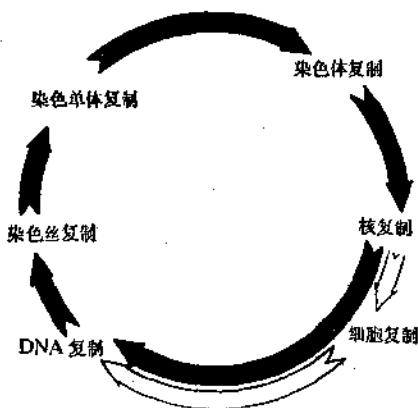


图 1-4 多核细胞的周期，细胞复制被抑制，而其他事态正常进行  
黑色箭头表示该周期中所进行的事态，空白箭头表示被省略的过程

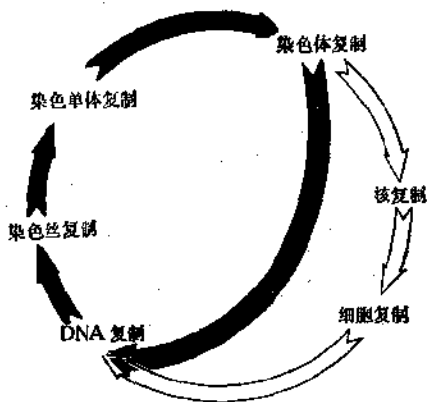


图 1-5 多倍性的细胞周期，核复制和细胞的复制被省略

来显示。还有一种产生多倍性的过程称为“核内有丝分裂”，即染色体的收缩和复制一直保持在完整的核膜之内进行，核和细胞的复制都省略了。这种情况比较稀少，在花药的毡绒层细胞中看到过。

3. 核加倍 双分染色体 (Diplochromosomes), 在主要为多倍性细胞的组织中，偶然在生长素刺激的有丝分裂中可以看到双分染色体。所谓双分染色体即四个相等的染色单体连接在一个着丝粒上。这是由于细胞周期中抑制了着丝粒的分离、染色体的分离和胞质分裂，整个周期缩短为只有 DNA 复制、染色丝复制和染色单体复制三个过程(图 1-6)。这种缩短的周期可以重复多次产生 8, 16 或 32 个染色单体连在一个着丝粒上的染色体。具 8 个染色单体的染色体曾在冠瘿瘤中和剑叶兰 (*Kniphofia*) 的髓细胞中报道过。

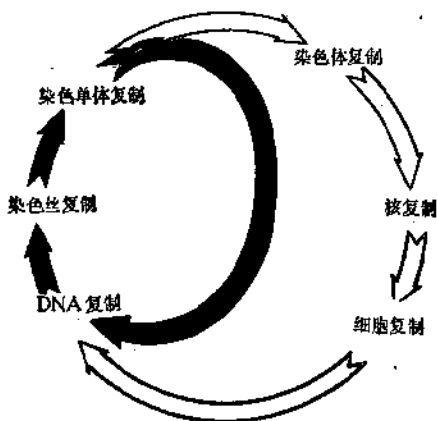


图 1-6 双分染色体的周期,该周期只有 DNA 复制、染色丝复制、染色单体复制,其余各过程都被省略



4. 核加倍 多线性 (Polyteny), 多线染色体是染色体有明显的多条并列的染色丝组成的情况, 经典的是在果蝇的唾液腺细胞中描述得很详细。这是认为细胞周期中组成染色体基本结构的核酸—蛋白质的染色丝不断复制的结果 (图1-7)。这种高度简化的周期可以多次重复, 形成多条、几十条、甚至几百条纵向排列的染色线。染色体的大小和 DNA 的含量常常显示这种复制的周期的次数。它们在各种植物的组织中发现过, 如反足细胞、助细胞、胚柄细胞、胚乳细胞和毡绒层细胞。在红花菜豆 (*Phaseolus coccineus*) 胚柄细胞中存在巨大的多线染色体, 并对它进行过详细的研究, 它的 DNA 相对含量最多的可达 8192C。

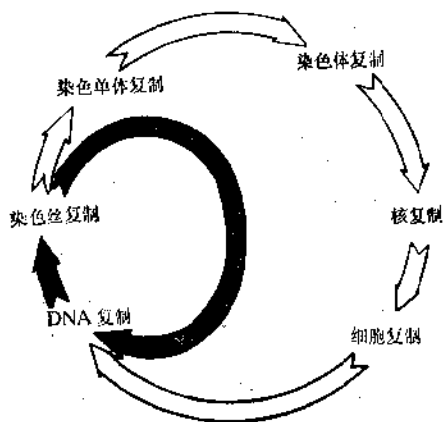


图 1-7 多线性周期, 周期的过程简化为只有 DNA 复制和染色丝复制。该周期常常发生多次重复, 形成多线染色体

5. 核减数 减数分裂 (Meiosis), 正常的减数分裂只发生在大小孢子形成时期。减数分裂包括两次连续的细胞周