

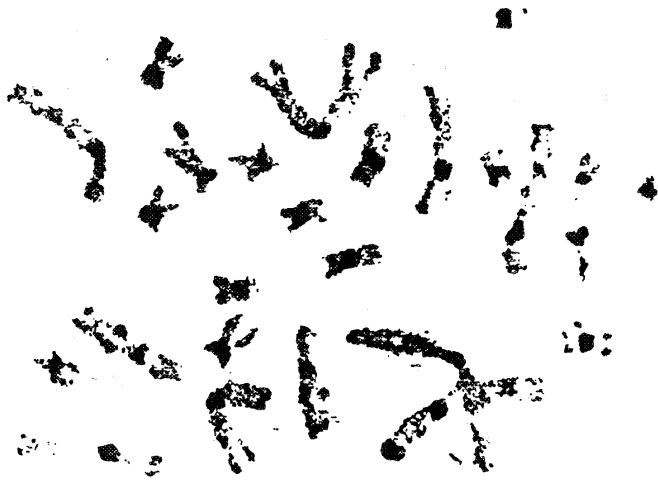
# 青蛙染色體的研究

## 高中組生物第一名

省立基隆高級中學

製作學生：林 玉 松

指導老師：江 淑 玲



### 一、動機：

我們從生物課中，知道每一種生物有定數之染色體，而且染色體是生物代代遺傳的重要訊息所在——也即是生命的藍圖。可是我們只能從書本上看到染色體的圖片，無法澈底了解染色體到底位在身體的什麼地方？怎樣才能把這些奇妙的染色體從身體內取出來！真正讓我們看到！而且生物課本上册第五章提到，減數分裂在生殖作用上具有重要意義。若無減數分裂，有性生殖的生物就無法保持遺傳延續性。可是，在減數分裂中，來自父母雙方的「同源色」體必須兩兩配對才能分開，而使染色體數減半。那麼，同源染色體又怎樣辨認的呢？這些問題在我們心中縈繞許久，於是我們請教生物老師，老師教我們用洋葱根尖壓片染色觀察染色體，可是總是無法得到像課本第五章所附的染色體圖那樣完整。於是我們又趁觀察青蛙表皮細胞及精細胞的實驗時，把青蛙的造血組織——骨髓細胞取出觀察。終於，我們利用一種簡單的方法，看到了青蛙完整的染色體。

爲了進一步研究，我們採用量染色體長短臂的方法及染色技術，製作染色體的核型，來瞭解同源染色體的意義。

## 二、實驗過程：

### (一)取蛙的骨髓細胞：

最先我們把蛙的股骨骨髓用鑷子取下，用粘附法將骨髓細胞附上玻片。然後，染色觀察，却發現骨髓內的脂肪太多，遮蔽了所有細胞。於是我們就用離心法把油小心的去掉，可是染色體又都緊縮在細胞內？

老師就教我們先將秋水仙素 (Oholchicine) 注入活蛙的腹腔內，一天後再將蛙骨髓取下，用細針弄碎，泡入低張溶液約一小時，使細胞膨脹，染色體分散，然後再用離心法將油及細胞碎片去除，餘下之細胞，再用固定液固定。

### (二)染色體玻片的製作：

有一種方法可以使染色體很均勻的散佈在玻璃片上，而且不會重疊，就是細胞懸浮液滴在斜放在玻片上流下，使細胞破裂，染色體釋出，然後讓玻片涼乾，大約每一隻中型蛙的兩條股骨髓，可滴成30枚含染色體的玻片。

### (三)染色與照相：

用醋酸地衣紅 (Aceto-orcein) 染色一小時，可以染出完整，清晰的染色體圖，再用顯微照相機照相，沖洗後，剪下染色體，測量其長度比例，作簡單的核型排列。

### (四)用特殊方法處理染色體，使染色體上有深淺的帶紋 (Band) 以辨認性染色體 (Sex Chromosomes) 及同源染色體 (Homologous Chromosome)。

在排列核型時，我們發現以測量染色體臂的長短來找出同源染色體，很不客觀，尤其是大小近似的染色體，更容易混淆而造成錯誤。

老師告訴我們目前的一種染色技術，可以利用酸鹼或蛋白酵素處理染色體，移去染色體上的某些成分。因爲染色體上的遺傳基因構造成份彼此不同，移去的就有多有少。若再用特殊的染料染色，就能使染色體上呈現深淺不同的帶紋。

這種帶紋與基因的排列順序大多是吻合的。

這樣說來，同源染色體的基因排列情形相同。若用這種方法，染出來的樣式應該會相同，那麼尋找同源染色體也就會比較容易了。並且，若要判斷能決定青蛙雌雄性別的「性染色體」應該更容易才對。

於是我們決定試試看能否用這種方法幫助我們的「核型」排列。在老師提供資料下，我們開始摸索，並且彼此研究。從去年十月底到今年二月。嘗試了四個多月的時間，改變各種不同的方法來處理染色體，使用不同濃度、不同 pH 值的酸鹼液……終於發現了一種方法，可以使每條染色體的著絲點或臂上，呈現深色的條紋來。在未處理前，每一個玻片必須在相位差顯微鏡下檢查，是否含有散得很開的染色體，然後將它泡置在45%的冰醋酸中三天，再用氫氧化鈉(NaOH)及氯化鈉(NaCl)配成 pH13 的溶液，處理染色體一分鐘，再經過 pH7 氯化鈉及檸檬酸鈉(Na Citrate)的溶液(我們稱為 s s c)。以65°C 的溫度處理20小時，這時若以稀濃度的吉氏染液染色5小時，即能使著絲點，出現黑點。若不經過處理，只以 s s c 處理，染色體的臂上就會有帶紋了。

我們非常高興有了這個結果，於是開始著手把測量染色體長短臂的方法，和比較染色體上帶紋的排列情形配合起來，終於定出青蛙的染色體「核型」。

雖然，結果，只不過是幾張圖片而已，但我們却在不斷的求知過程中，學習到探討科學應有的態度及方法，這樣就已經受益匪淺了！

### 三、藥品及器材：

藥品：

- (一) 0.05%秋水仙素。
- (二) 低張溶液0.075M KCl。
- (三) 固定液(3份甲醇：1份冰醋酸)。
- (四) 醋酸(Aceto-Orcein)地衣紅。
- (五) 磷酸緩衝液。

- (六)吉氏染料。
- (七)氫氧化鈉及氯化鈉。
- (八)檸檬酸鈉。
- (九)45%冰醋酸。
- (十)清潔劑。
- (十一)95%酒精。
- (十二)柯達顯影劑 ( D—76 ) 及定影劑。

器材：

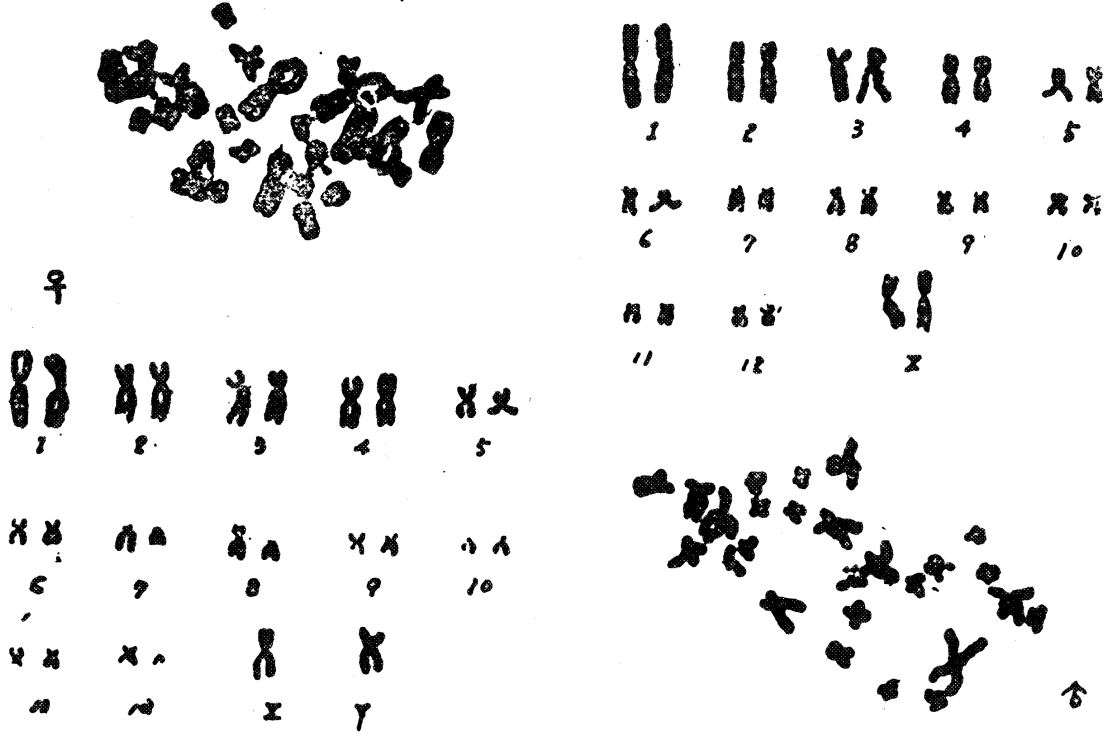
- (一)注射針筒。
- (二)解剖儀器。
- (三)載玻片、蓋玻片及染缸。
- (四)離心機。
- (五)天秤。
- (六)冰箱、烘箱及乾燥器。
- (七)相位差顯微鏡。
- (八)酸鹼度測量計。
- (九)溫水浴器。
- (十)顯微照相裝置。
- (十一)量尺及分規。
- (十二)電熱板。

#### 四、詳細的實驗步驟：

- (一)洗滌載玻片：用非肥皂刷洗玻片、沖水，置入清潔劑中20小時，沖水半小時，過蒸餾10分鐘，烘乾備用。
- (二)注射青蛙：每100克的體重，以1.5c.c.的秋水仙素 ( 0.05% )，注入青蛙的腹腔，任其在水槽內活動22—24小時。
- (三)解剖、取骨髓：取下股骨，把髁骨髓 ( Epiphysis marrow ) 用小鑷子很快的取下，置入約5 ml 的低張溶液中，用細解剖針拉碎，呈細胞懸浮液。
- (四)離心後製成染色體玻片：
  - ①在低張溶液中(室溫下)約1小時，倒入離心管，以1000rpm離心5分。取出，小心吸去上層含油液。

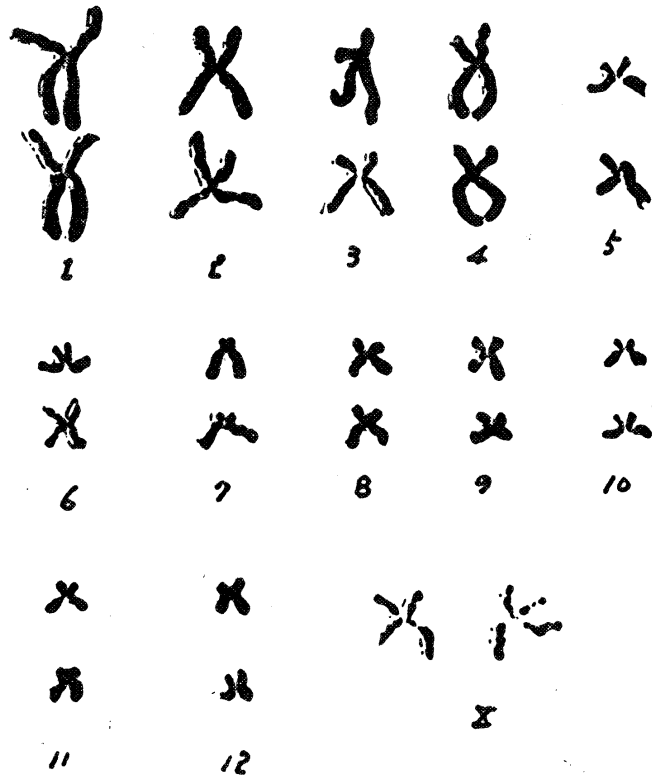
- ②加入固定液混合後放置10分鐘。
  - ③輕輕抽吸成懸浮液，再離心4分鐘。
  - ④、②、③步驟再重覆兩次。
  - ⑤抽吸成懸浮液，滴下一滴在斜放的玻片上（玻片須先泡過蒸餾水），涼乾，再拿到相位差顯微鏡下檢查，並把含染色體的玻片置放在乾燥器內保存。
- (五)染色並照相：取染色體的玻片，以醋酸地衣紅，染色一小時，在顯微鏡下檢查，並放大500倍照相（加綠色濾光鏡）。
- (六)暗房沖洗：將沖洗出的底片放在放大機上，以3號紙曝光、映照。
- (七)剪取染色體並測量，求其長短臂的比例。
- (八)特殊染色處理。
- ①把乾燥器內的染色體玻片取出（最好在一星期後），置放於45%醋酸中3天，再用95%酒精沖洗，涼乾。
  - ②置入pH 13的鹼液中1分鐘，取出後用酒精沖洗，涼乾。
  - ③置入pH的7的2xssc，在65°C的水浴中20小時。
  - ④取出後過酒精，完全涼乾後，泡入稀濃度（0.02%）的吉氏染液中染色五小時。
  - ⑤由染液中取出，立即沖水，涼乾。
  - ⑥拿至顯微鏡下檢查是否有呈現帶紋的染色體。
  - ⑦照相，剪取染色體，比較。

中蛙 (Rana, scholastica Shaw)



圖

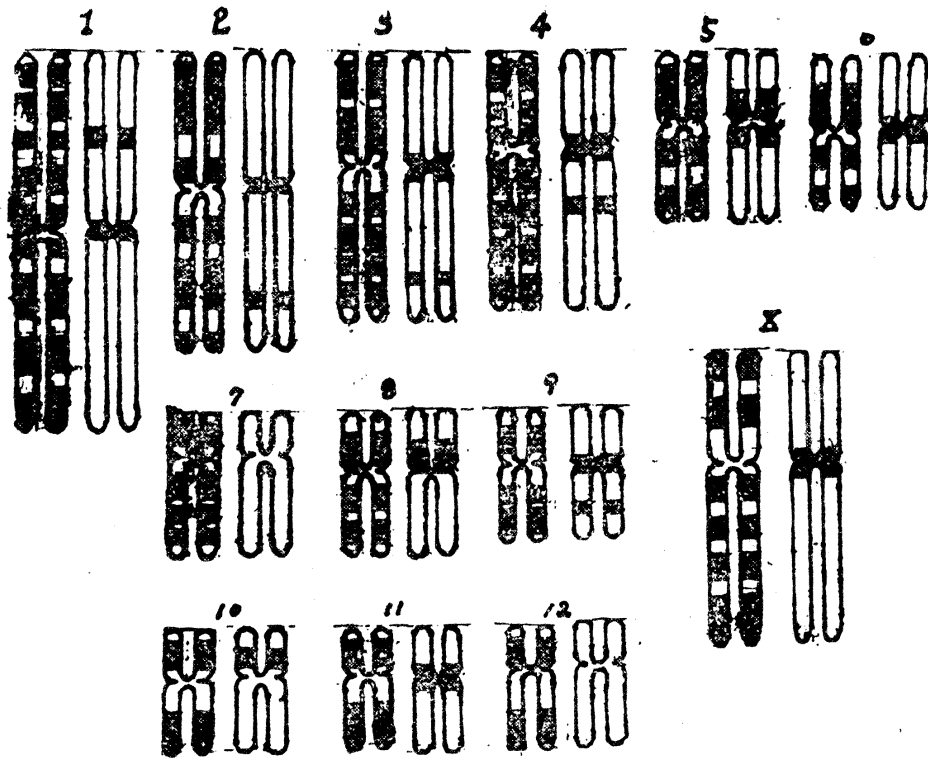
一



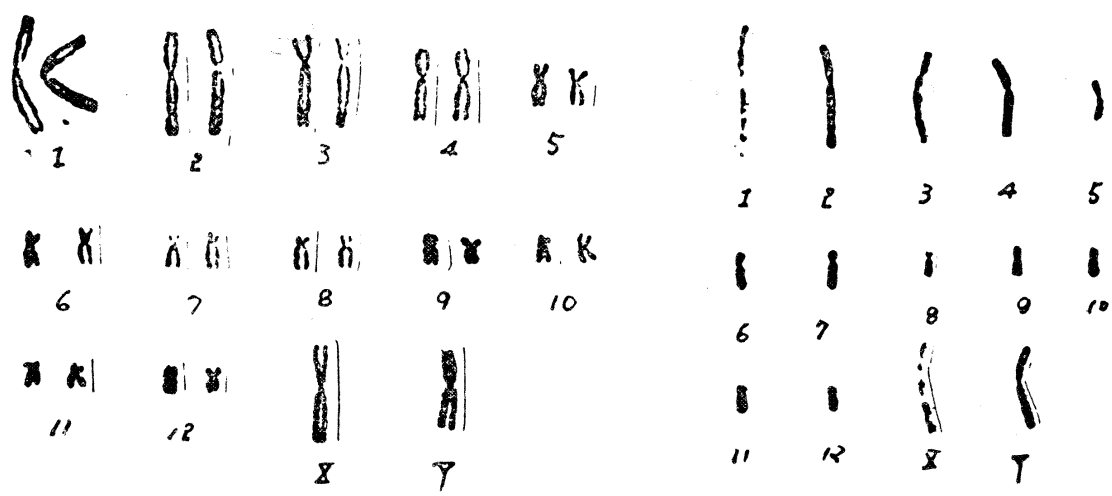
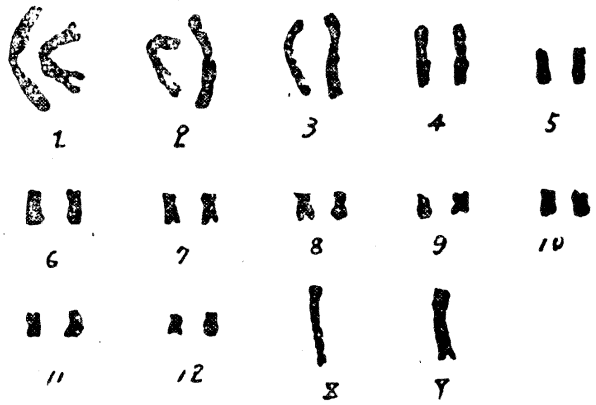
中蛙 茶色帶 茶色帶 分佈 圖

圖

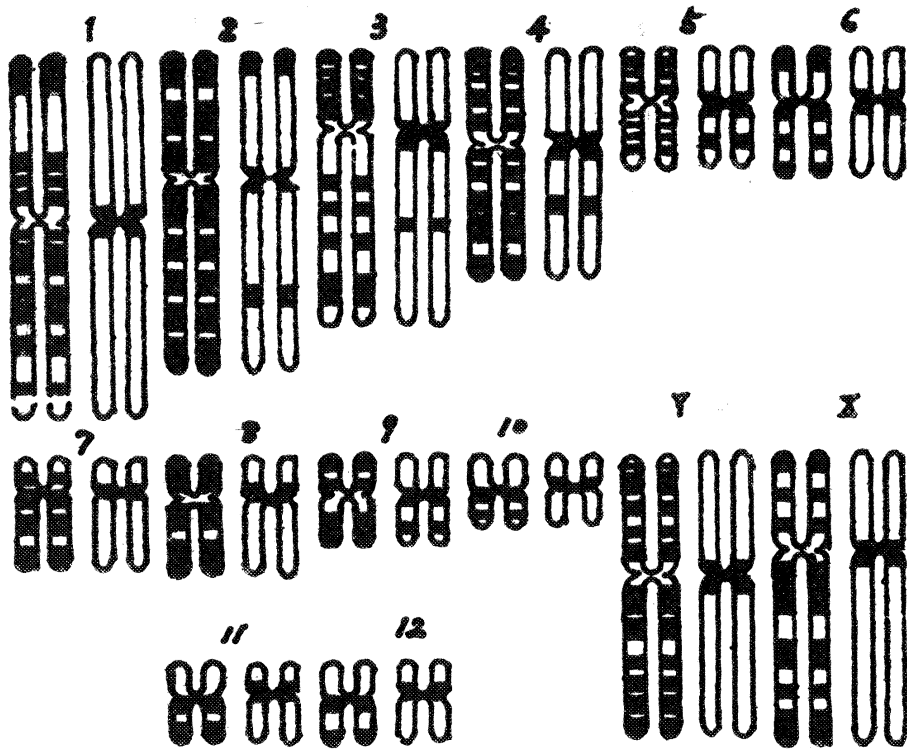
二



雄性蛙染色体分佈圖



♀金線蛙 染色体核型及染色帶之分佈 (*Rana placyi* Latuste)





♀ 金線蛙染色帶的分佈圖

對別	短 臂					( 染色帶分佈位置 ) ※						長 臂					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1	0.1-0.07	0.2-0.26	0.3-0.4	0.79-0.55	0.87-0.1	0.05-0.08	0.12-0.27	0.33-0.38	0.4-0.51	0.59-0.68	0.74-0.82						
2	0.05-0.3	0.33-0.59	0.73-1.0	-	-	0.04-0.25	0.29-0.4	0.45-0.58	0.6-0.75	0.8-1.0	-						
3	0.15-0.48	0.5-0.65	0.72-0.79	0.86-1.0	-	0.25-0.3	0.4-0.45	0.55-0.6	0.75-0.9	-	-						
4	0.16-0.34	0.41-0.57	0.67-0.71	0.73-0.79	0.84-0.93	0.04-0.11	0.17-0.26	0.35-0.48	0.53-0.62	0.67-0.73	0.83-1.0						
5	0.11-0.33	0.44-0.62	0.64-0.8	-	-	0.16-0.2	0.3-0.36	0.46-0.55	0.63-0.75	-	-						
6	0.68-1.0	-	-	-	-	0-0.23	0.47-0.64	0.86-1.0	-	-	-						
7	0.26-0.52	-	-	-	-	0-0.2	0.32-0.58	0.75-1.0	-	-	-						
8	0.12-1.0	-	-	-	-	0.05-0.46	0.6-1.0	-	-	-	-						
9	0.11-0.51	0.63-1	-	-	-	0.35-0.63	-	-	-	-	-						
10	-	-	-	-	-	0-0.3	0.45-0.78	-	-	-	-						
11	-	-	-	-	-	0-0.33	0.5-1.0	-	-	-	-						
12	-	-	-	-	-	0-0.34	0.85-1.0	-	-	-	-						
X	0.13-0.24	0.31-0.4	0.49-0.57	0.66-0.81	0.86-0.98	0.08-0.23	0.25-0.4	0.52-0.58	0.64-0.72	0.77-0.86	0.91-1.0						
Y	0.2-0.3	0.5-0.6	0.8-1.0	-	-	0.07-0.32	0.46-0.6	0.69-0.75	0.82-1.0	-	-						

♀ 金線蛙染色帶 ( 各深色帶與著絲點的距離 )  
 ※ 將短臂或長臂之長當作 1

對別	短 臂					長 臂					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
1	0.06-0.16	0.21-0.40	0.50-0.60	0.62-0.76	0.79-0.95	0.05-0.12	0.21-0.28	0.31-0.43	0.50-0.69	0.83-1.0	▲ 牛蛙染色帶 ※ 短臂或長臂之長當作 1 各深色帶與著絲點的距離
2	0.08-0.28	0.47-0.60	0.65-0.81	-	-	0.13-0.36	0.38-0.48	0.56-0.70	0.81-1.0	-	
3	0.17-0.53	0.61-0.95	-	-	-	0.16-0.28	0.36-0.52	0.56-0.65	0.73-0.89	-	
4	0.26-0.41	0.55-0.76	-	-	-	0.13-0.35	0.49-0.71	0.84-1.0	-	-	
5	0.10-0.82	-	-	-	-	0.14-0.36	0.5-0.79	-	-	-	
6	0.11-0.6	-	-	-	-	0.17-0.04	0.7-0.95	-	-	-	
7	0.33-0.83	-	-	-	-	0.14-0.34	0.48-0.62	0.7-0.83	-	-	
8	0.12-0.70	-	-	-	-	0.17-0.42	0.6-0.86	-	-	-	
9	0.26-0.78	-	-	-	-	0.27-0.45	0.56-0.90	-	-	-	
0	0.29-0.87	-	-	-	-	0.36-0.91	-	-	-	-	
1	0.27-0.68	-	-	-	-	0.4-0.9	-	-	-	-	
2	0.10-0.69	-	-	-	-	0.48-0.96	-	-	-	-	
3	0.05-0.36	0.62-0.89	-	-	-	0.15-0.23	0.35-0.43	0.5-0.65	0.73-1.0	-	
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	

染色體	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		合計
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	X	X	
長臂	9.0	8.5	9.3	9.5	8.8	9.8	7.9	7.0	4.8	4.3	5.0	6.0	3.3	3.9	3.5	3.0	2.7	2.8	3.0	3.1	3.1	2.9	2.9	2.9	7.0	7.8	221.4 mm
	7.2	7.8	6.9	7.4	5.0	6.5	5.1	5.5	3.5	4.3	4.3	3.0	4.0	4.3	4.5	4.0	3.3	3.5	3.0	3.3	2.3	2.9	3.0	/	6.0	6.6	
	9.5	8.3	10.5	9.0	8.5	7.5	6.0	6.0	5.0	5.0	4.8	4.5	4.5	5.0	4.0	4.0	5.8	/	/	3.7	3.3	3.8	/	/	7.5	8.0	
短臂	9.0	8.5	5.3	5.5	3.8	3.7	4.5	5.0	4.3	4.3	2.8	2.5	3.3	3.9	3.5	3.0	2.7	2.7	3.0	3.1	3.1	2.9	2.9	2.6	6.2	6.0	/
	6.3	6.5	4.1	4.3	5.9	3.9	4.1	3.0	3.3	3.5	2.8	3.3	3.5	2.8	2.7	2.4	2.4	2.3	3.0	3.0	3.0	2.3	2.5	/	4.0	3.7	
	7.5	8.3	4.5	3.5	5.5	5.8	4.5	5.2	4.0	4.0	3.3	3.3	3.3	4.0	2.5	2.0	2.5	/	/	2.5	2.5	2.8	2.8	/	6.0	5.7	
臂長比例	1.14	1.06	1.92	2.01	1.78	1.84	1.44	1.49	1.18	1.15	1.61	1.62	1.34	1.27	1.50	1.63	1.72	1.60	1.16	1.15	1.18	1.21	1.10	1.13	1.43	1.50	/
誤差	0.08	0.06	0.2	0.2	0.3	0.4	0.2	0.02	0.04	0.13	0.25	0.13	0.12	0.14	0.2	0.8	0.8	0.04	0.1	0.1	0.09	0.8	0.19	/	0.14	0.29	/
總長百分比	7.2	7.2	5.8	5.7	5.4	5.4	4.6	4.6	3.6	3.7	3.3	3.3	3.2	3.5	3.1	2.9	2.8	2.7	2.6	2.7	2.4	2.4	2.5	2.2	5.3	5.3	100%
誤差	0.4	0.3	0.5	0.2	0.5	0.3	0.2	0.7	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2	0.1	0.4	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	/	0.5	0.4	/
染色體實際長度(μ)	1.61x10 <sup>4</sup>	1.60x10 <sup>4</sup>	1.35x10 <sup>4</sup>	1.31x10 <sup>4</sup>	1.25x10 <sup>4</sup>	1.23x10 <sup>4</sup>	1.07x10 <sup>4</sup>	1.06x10 <sup>4</sup>	8.25x10 <sup>3</sup>	8.42x10 <sup>3</sup>	7.60x10 <sup>3</sup>	7.50x10 <sup>3</sup>	7.26x10 <sup>3</sup>	7.95x10 <sup>3</sup>	6.89x10 <sup>3</sup>	6.11x10 <sup>3</sup>	6.43x10 <sup>3</sup>	5.93x10 <sup>3</sup>	6.00x10 <sup>3</sup>	6.15x10 <sup>3</sup>	5.57x10 <sup>3</sup>	5.90x10 <sup>3</sup>	5.90x10 <sup>3</sup>	5.55x10 <sup>3</sup>	1.22x10 <sup>4</sup>	1.21x10 <sup>4</sup>	2.21x10 <sup>5</sup>

♂ 牛蛙染色體長度比例

染色體	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		合計
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	X	Y	
長臂	12	11	12	9.0	10.5	10	8.0	8.1	5.8	5.8	6.5	5.5	5.2	5.0	5.0	5.0	6.0	4.0	4.2	4.2	5.0	4.0	4.0	4.0	7.5	7.0	395.3 mm
	11	12	11	11.1	10	10	7.5	7.5	5.5	5.0	5.1	6.0	5.1	5.2	4.5	4.5	4.2	4.1	4.5	4.0	4.8	4.5	4.2	3.8	8.0	7.8	
	12.2	11	13.9	10	10	10.5	8.9	7.9	5.8	5.9	7.0	6.0	6.0	6.0	4.5	4.0	5.0	5.2	4.9	4.0	4.0	4.1	3.9	4.0	8.1	7.9	
	12.1	10.5	12.9	11.0	10.7	10.1	8.3	8.0	5.9	5.9	6.0	5.9	5.0	6.0	4.9	4.0	5.0	5.0	5.0	4.0	4.1	3.8	4.0	3.7	8.0	8.0	
短臂	10	9.2	7.0	6.5	5.0	4.0	7.0	6.5	5.0	4.8	4.0	4.8	3.0	2.5	3.5	4.0	3.0	3.0	2.8	3.2	3.0	3.0	3.2	3.0	7.5	5.5	
	10	10	7.0	6.0	6.0	4.0	7.2	6.5	4.5	4.5	6.0	4.5	3.0	3.0	3.8	3.8	3.5	3.2	3.5	4.0	3.0	3.2	3.0	3.0	7.6	5.8	
	10.2	10	6.9	6.5	6.2	5.9	7.3	5.0	4.8	4.9	3.9	2.7	3.5	3.1	3.9	3.9	3.1	3.0	3.0	3.2	3.1	3.9	3.1	4.1	7.0	6.4	
	10.5	10	7.0	6.4	6.1	5.6	6.9	4.9	5.0	4.8	4.5	3.1	3.0	3.1	4.0	3.2	3.0	3.0	3.8	3.2	3.5	4.0	3.1	4.7	7.1	6.8	
臂長比例	1.16	1.13	1.77	1.62	1.78	2.13	1.17	1.2	1.14	1.20	1.5	1.6	1.77	2.00	1.24	1.17	1.46	1.49	1.32	1.19	1.45	1.20	1.29	1.17	1.08	1.23	/
誤差	0.01	0.06	0.14	0.12	0.08	0.43	0.2	0.2	0.04	0.03	0.1	0.4	0.09	0.04	0.06	0.04	0.18	0.21	0.13	0.06	0.23	0.17	0.02	0.13	0.05	0.07	/
總長百分比	7.35	7.35	6.45	5.35	5.30	5.00	5.05	4.91	3.45	3.45	3.4	3.2	2.7	2.7	2.85	2.6	2.55	2.50	2.7	2.4	2.5	2.5	2.3	2.4	5.1	4.6	100%
誤差	0.05	0.05	0.05	0.15	0.10	0.10	0.05	0.35	0.15	0.05	0.3	0.4	0.1	0.1	0.05	0.2	0.05	0.10	0.0	0.1	0.2	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1	/
染色體實際長度(μ)	1.4x10 <sup>4</sup>	1.37x10 <sup>4</sup>	1.29x10 <sup>4</sup>	1.24x10 <sup>4</sup>	1.07x10 <sup>4</sup>	1.01x10 <sup>4</sup>	9.47x10 <sup>3</sup>	9.07x10 <sup>3</sup>	6.91x10 <sup>3</sup>	6.93x10 <sup>3</sup>	7.08x10 <sup>3</sup>	6.42x10 <sup>3</sup>	5.55x10 <sup>3</sup>	5.55x10 <sup>3</sup>	5.47x10 <sup>3</sup>	5.40x10 <sup>3</sup>	5.46x10 <sup>3</sup>	5.33x10 <sup>3</sup>	5.29x10 <sup>3</sup>	5.07x10 <sup>3</sup>	5.08x10 <sup>3</sup>	5.08x10 <sup>3</sup>	4.75x10 <sup>3</sup>	4.92x10 <sup>3</sup>	1.01x10 <sup>4</sup>	9.28x10 <sup>3</sup>	2.02x10 <sup>5</sup>

♀ 牛蛙染色體長度比例

染色體 對 別	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12		13		合 計
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	X	Y	
長 臂 (mm)	15	13	14.5	14	14.2	14	8.9	10.5	6.9	5.3	5.6	5	4.9	5.1	4.0	4.1	4.0	4.5	4.0	4.2	4.0	3.6	4.0	/	11.3	9.9	264.3 mm
	9.9	10	7.9	8	7.5	7.5	7.0	7.0	4.5	4.9	4	4.9	4.3	4.0	3.9	3.5	4.0	3.5	4.0	4.2	3.4	3.9	4.0	3.8	8	7.9	
	7.6	8.2	7.6	6.5	7.1	7.1	6.9	6.9	5.1	/	3.1	3	3.8	4.0	3.1	3.1	3.2	3.1	/	2.6	2.9	/	2.4	2.9	6.9	7.0	
短 臂 (mm)	13	12.1	18.0	8.2	6.6	7.5	6.0	6.0	2.5	2.1	4.2	4.2	2.5	2.2	3.1	3.1	3.1	3.5	2.8	2.7	2.6	2.0	2.6	/	8.0	7.5	/
	8.9	7.8	5.9	6.5	4.8	5.0	5.8	4.7	2.6	3.9	2.7	3.9	3.8	3.2	3.3	2.8	3.0	3.0	2.7	2.1	2.8	2.2	2.1	2.0	6.0	4.2	
	6.6	6.2	4.8	4.1	2.9	3.0	4.2	4.2	2.9	/	3.0	2.8	2.1	2.2	2.5	2.1	2.1	2.1	/	2.2	2.2	/	2.1	1.9	4.1	3.5	
臂長比例	1.14	1.12	1.58	1.51	1.05	1.91	1.44	1.63	2.08	1.89	1.28	1.17	1.63	1.80	1.24	1.35	1.38	1.31	1.47	1.58	1.35	1.60	1.53	1.58	1.45	1.56	/
誤 差	0.01	0.07	0.13	0.14	0.23	0.25	0.12	0.07	0.40	0.35	0.13	0.05	0.25	0.30	0.03	0.06	0.07	0.08	0.01	0.23	0.09	0.03	0.21	0.10	0.10	0.22	/
總 長 百分比	8.0	7.6	6.4	6.1	5.7	6.0	5.3	5.3	3.4	2.9	3.0	3.1	2.8	2.8	2.7	2.5	2.6	2.6	2.4	2.4	2.4	2.1	2.3	2.4	5.9	5.5	100%
誤 差	0.38	0.43	0.5	0.3	0.5	0.5	0.4	0.4	0.5	0.6	0.2	0.2	0.4	0.3	0.3	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.4	/
染色體 實際長度 ( $\mu$ )	$2.03 \times 10^4$	$1.910 \times 10^4$	$1.623 \times 10^4$	$1.577 \times 10^4$	$1.450 \times 10^4$	$1.523 \times 10^4$	$1.293 \times 10^4$	$1.310 \times 10^4$	$8.170 \times 10^3$	$8.100 \times 10^3$	$7.530 \times 10^3$	$7.930 \times 10^3$	$7.130 \times 10^3$	$6.900 \times 10^3$	$6.640 \times 10^3$	$6.240 \times 10^3$	$6.460 \times 10^3$	$6.570 \times 10^3$	$6.650 \times 10^3$	$6.000 \times 10^3$	$5.960 \times 10^3$	$5.850 \times 10^3$	$5.740 \times 10^3$	$5.300 \times 10^3$	$1.473 \times 10^4$	$1.334 \times 10^4$	$2.634 \times 10^5$

♀ 金線蛙染色體長度比例

## 六、結論：

- (一)秋水仙是一種植物鹼，可抑制有絲分裂時紡錘體的形成，使染色體暫停留在中期，並使染色體分散而不分離。
- (二)離心的轉速不可太快，否則會使染色體收縮而不伸展。
- (三)第一次離心的上層液，須小心去除，否則染色體邊緣會有許多油滴。
- (四)染色體在固定液的時間、染色體的製備方法，各種處理溶液的濃度與染色的時間，均會影響染色體上帶紋的呈現，並且各類蛙所處理的時間也有不同。
- (五)我們也曾試過用氫氧化鋇代替氫氧化鈉，結果着絲點附近染色也深，因氫氧化鋇作用較強，但 S-S C 的時間可以縮短為一小時，這種處理方法比較節省時間。
- (六)細胞分裂前期或中期的染色體，若用普通方法染色，偶而也發現臂上有染色帶，到了中期，則染色質越來越緊縮，染色帶就不見了。甚至有時不經染色，在相位差顯微鏡下可發現染色帶，不過若以吉氏染液染色，染色帶會更清楚。
- (七)染色帶形成的原因不知，可能與染色體上的染色質或 DNA 及蛋白質的分佈有關；或是染色體經處理後，移去部份染色質有關。
- (八)目前可確定的是染色體的著絲點染得深是「永久惰化基因」存在的位置。
- (九)我們可將染色帶作下列用途：
  - ①判斷永久惰化基因的位置。
  - ②幫助辨認同源染色體。
  - ③可以比較各種血緣相近的生物染色體，以推測其演化的途徑。
  - ④可以鑑定某些人類的遺傳病，例如缺或多了那一條染色體，或者染色體形狀是否有異常的情形。
- (十)青蛙的染色體有26條，也就是13對同源染色體，決定雌雄的性染色體，在雌蛙是 X Y，雄蛙是 X X，因此性別的決定主要在雌蛙。這與人類恰恰相反。

## 七、研究計劃：

由於最初的好奇而引發這一次的實驗，雖然我們都抱有極大的熱忱，却因為每一種蛙染色體的特性不同，處理的時間必須不斷嘗試失敗，再改變濃度及時間，因此在摸索的階段最為艱苦，而且實驗時期正值冬季，蛙的來源困難，時間又不足，所學也有限，目前的結果只是初步，等夏天一到，我們打算繼續把各種相近似的蛙種收集，再分別作出其染色帶。希望能作有系統的比較，以求其血緣的關係。

### ※附錄——藥品的配製：

(一)磷酸緩衝液：0.1M檸檬酸 9 ml 加入300ml 蒸餾水中，再0.2M磷酸氫二鈉調至pH 6.8—7.0。

(二)吉氏染液：0.2 g 的曙紅 ( Eosin ) 與0.2 g 的天青 ( Azure I ) 各以緩衝液配成20ml ，再各取 2 ml 稀釋至50ml ，兩者混合後，加入10ml 的甲醇即可。

(三)鹼液：稱0.56 g 氫氧化鈉與1.31 g 的氯化鈉加入200ml 的蒸餾水中，再以0.1N鹽酸調至pH13。

(四)  $2 \times \text{SSC}$ ：26.3 g 氯化鈉與13.2 g 檸檬酸鈉加入500ml 的蒸餾水中，再用0.1N鹽酸調至pH7，貯於冰箱，用時再稀釋成 $\frac{1}{3}$ 倍。

(五)清潔劑：強腐蝕性，不可觸及皮膚和衣物。不小心濺到時用清水沖洗。將重鉻酸鉀50 g 溶於100ml 的水中，再慢慢加到900ml 的濃硫酸到重鉻酸鉀的水溶液中。在加濃硫酸時不時攪拌，並注意容器經不住熱而破裂。(厚塑膠桶亦可)