DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.11.009

论著

文章编号:1000-5404(2003)11-0956-05

正加速度重复暴露大鼠脑差异表达基因的筛选

林 凯[1],蔡 庆[2],卞修武[1],刘红巾[3],朱美财[2] ([1]第三军医大学附属西南医院病理学研究所,重庆 400038;[2]空军总医院临床分子生物学研究中心;[3]航空病研究中心,北京 100036)

提 要:目的 筛选大鼠经正加速度(Gositiveacceleration, +Gz)重复暴露后脑的差异表达基因,探讨+Gz重复暴露致脑损伤的分子机制。方法 应用抑制性消减杂交技术,构建高消减效率的+Gz重复暴露大鼠脑cDNA消减文库;用差异筛选技术筛选阳性克隆;用序列分析确定阳性克隆的性质;用RT-PCR证实阳性克隆的可靠性。结果 从消减库中获得70个阳性克隆;经差异筛选后,选取其中10个阳性克隆,序列分析表明,7个克隆与已知基因高度同源,3个为新的候选基因。RT-PCR证实了差异表达基因在+Gz重复暴露大鼠脑中高表达。结论 用抑制性消减杂交技术筛选发现的3个新的cDNA可能在+Gz脑损伤的病理过程中起重要作用。

关键词:正加速度(+Gz);脑损伤;差异表达基因;抑制性消减杂交
中图法分类号:R322.81;R394-33;R852.21 文献标识码:A

Screening of differentially expressed genes in rat brain repeatedly exposed to +Gz

LIN Kai, CAI Qing, BIAN Xiu-wu, LIU Hong-jin, ZHU Mei-cai (Institute of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: **Objective** To screen the differentially expressed genes in rat brain repeatedly exposed to +Gz and to explore the possible molecular mechanism of brain damage due to repeated +Gz exposures. **Methods** A cDNA subtractive library with high subtractive efficiency of repeated +Gz exposures in rat brain was constructed by suppression subtractive hybridization (SSH). Positive clones were screened by differential screen technique. Sequence analysis was performed on 10 clones. The differentially expressed genes were confirmed by RT-PCR. **Results** Seventy positive clones were identified from SSH pools. Sequence analysis performed on the 10 positive clones showed that 7 clones were homologous with the genes published in GenBank and 3 clones were unknown genes. The results from RT-PCR confirmed that the expression levels of those differentially expressed genes in rat brain of +Gz exposure group were significantly higher than those in control group. **Conclusion** The three novel differentially expressed cDNAs are found with SSH and they might play an important role in the pathologic course of rat brain damage due to repeated +Gz exposures.

Key words: positive acceleration(+Gz); brain damage; differentially expressed genes; suppression subtractive hybridization

未来战争是高技术装备的对抗,现代高性能战斗机具有高度的机动能性,可产生高正加速度(Gositive acceleration, +Gz)值>9 G)。在航天医学研究中,通常是按加速度或惯性力对人体纵轴作用的方向进行分类,其中正向加速度即+Gz的方向是从足到头,而惯性力的方向是从头到足;快增长率为>6 G/s);过载可持续45 s,超过了人生理耐限,飞行中的加速度晕厥(G-induced loss of conciousness, G-LOC)现象逐渐增多,是威胁飞行安全的主要因素。因此,研究持续性高+Gz对脑的影响,从分子生物学方面揭示G-LOC的发生机制,探讨新的有效防护措施,已成为目前航空航天医学的主要研究热点。抑制性消减杂交法(Suppression subtractive hybridization, SSH)是1996年由Diatchenko等[1]在抑制性PCR的基础上首次发明的一种消减杂交技术,用于分离1对组织或细胞间差异表达的基因。我们采用抑制性消减杂交法,构建了+Gz重复暴露大鼠脑cDNA消减文库,筛选了差异表达的基因,旨在从分子水平探讨+Gz脑损伤的机制,为从基因水平认识和防护+Gz脑损伤提供依据。

基金项目:空军后勤部科研基金资助项目(KH9919076)
作者简介:林 凯(1972-),女,福建省仙游县人,硕士研究生,主治医师,主要从事脑损伤分子机制和防护方面的研究。电话:(023)68752246
通信作者:卞修武,E-mail:bianxiuwu@263.net
收稿日期:2002-06-27;修回日期:2002-09-29

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1　材料与方法

1.1　动物准备

选取体质量(200±15) g 的 SD 大鼠 10 只(军事医学科学院实验动物中心提供), 分成对照组和+Gz 重复暴露实验组。将大鼠固定于动物离心机的转臂上, 头朝向离心机轴心, 离心机半径为 2 m。实验组所采用的+Gz 暴露条件为: G 值为+10 Gz, 增长率 1.5 G/s, 峰值持续时间 3 min, 共作用 3 次, 2 次中间间歇 30 min。对照组大鼠亦在动物离心机上经历类似实验步骤, 所承受的 G 值为+1Gz。

1.2　mRNA 的分离纯化

+Gz 暴露后 2 h 将大鼠断颈处死取脑, 用 Trizol 试剂(Gibco BRL 公司)提取脑组织总 RNA。用 Pharmacia Biotech 公司 mRNA Purification 试剂盒分离纯化 mRNA, 操作按试剂盒说明书进行。紫外线分光光度计(日本岛津 UV2201 型)测定 mRNA 浓度和纯度, 重复测定 3 次, A_{260}和 A_{280}之比应为 1.8～2.0, 计算样品 mRNA 浓度。

1.3　抑制性消减杂交

应用 Clontech 公司 PCR－SelectTM cDNA Subtraction Kit 操作按说明书进行。

1.3.1　单链 cDNA(sscDNA)及双链 cDNA(dscDNA)合成　　取 Poly(A)+ RNA 4 μl(2 ng)和 cDNA 合成引物 1 μl, 70 ℃退火结合 2 min 后, 加入 AMV 逆转录酶(200 U)及 dNTP 组成反应体系, 总体积 10 μl, 42 ℃延伸 1.5 h。立即在 sscDNA 合成体系中加入 DNA 聚合酶 I、RNase H、*E. coli* DNA 连接酶、dNTP 组成的总体积 80 μl 的反应体系, 16 ℃孵育 2 h 后加入 6 U T4DNA 聚合酶, 16 ℃再反应 30 min 后, 用酚/氯仿/异戊醇(25∶24∶1)纯化后, 再沉淀后溶于 50 μl 水中。

1.3.2　连接效率检测　　暴露组 dscDNA 经 *Rsa* Ⅰ酶切后与两种接头衔接, 在正向消减以+Gz 反复暴露组脑 cDNA 为实验方, 以对照组脑 cDNA 为驱动方; 在反向消减杂交中, 以对照组脑cDNA为实验方, 以+Gz 反复暴露组脑 cDNA 为驱动方。将实验方 dscDNA 以1∶6 稀释后, 分为两组, 各 2 μl, 分别为接头 1、2(Adaptor 1、2)连接, 16 ℃反应过夜后进行连接效率检测。

1.3.3　两次消减杂交　　在鉴定连接效率满意(＞25%)后, 将连接有 Adaptor 1 和 Adaptor 2 的实验方 dscDNA 1.5 μl 分别与 1.5 μl 驱动方 dscDNA 在 68 ℃杂交 8 h 后, 立即将两组经过第 1 次消减杂交的体系混合, 另加新变性的驱动方 cDNA, 68 ℃杂交过夜。加 200 μl 缓冲液稀释。

1.3.4　两次抑制性 PCR 及抑制效率检测　　取 1 μl 稀释后的第 2 次杂交后的产物在 50× Adventage klen Tag 聚合酶作用下, 以 Adaptor 1 及 Adaptor 2 的外侧序列分别为 5′及 3′引物进行第 1 次 PCR 扩增, 取第 1 次 PCR 产物 3 μl, 1∶10 稀释后取 1 μl, 在 50× Advantage klen Tag 聚合酶作用下, 以 Adaptor 1 及 Adaptor 2 的内侧序列分别为 5′及 3′的巢式 PCR 引物进行第 2 次 PCR 扩增, 并进行 PCR 产物消减效率检测。

1.4　cDNA 消减文库的构建(T/A 克隆法)

应用 Clontech 公司 Advantage PCR Cloning 试剂盒。取 3 μl(约 8 ng) PCR 产物及 2 μl PT-Adv 线性化质粒载体, 在 1 μl(4 Weis 单位)T4DNA 连接酶的作用下, 14 ℃反应过夜后－20 ℃保存。取 2 μl 连接反应产物, 加入含 50 μl 感受态大肠杆菌 Top 10 F′中, 经水浴、热休克, 另加 250 μl SOC 液, 置 37 ℃, 225 r/min 摇菌 1 h, 取 200 μl 菌液种植于含 50 mg/L 氨苄青霉素的 LB/X-gal/IPTG 培养板上, 37 ℃培育 18 h。

1.5　cDNA 消减文库的扩增及初步鉴定

随机挑取 75 个白色菌落, 按 Sambrook 等[2]的方法制备质粒, 用 *Eco*RⅠ进行酶切分析。加 15% 甘油, 液氮速冻, －70 ℃保种。

1.6　差示筛选消减 cDNA 文库

1.6.1　差示探针制备　　分别取正向消减杂交 cDNA 和反向消减杂交 cDNA 用[α-^{32}P] dCPT(北京亚辉生物医学公司)标记。用 Chroma Spin-100 试剂盒(Clontech 公司)纯化。

1.6.2　点膜和杂交　　以 75 个菌落为模板进行 PCR 反应。取 5 μl PCR 产物加 5 μl 0.6 mol/L NaOH 混匀取 2 μl 平行点在两张正电子尼龙膜上。将膜放入 0.5 mol/L Tris-HCl 中, 中和 4 min 后干燥, UV 紫外交联机固定。将上述两张滤膜在 Expression Hyb 杂交液中(含有与 PCR 引物互补的寡核苷酸序列和 100 mg/ml 鲑鱼精 DNA)预杂交 68 ℃ 30 min。分别加入标记好的探针于68 ℃杂交过夜。

1.6.3　洗膜和显影　　用洗膜液Ⅰ(2× SSC, 0.5% SDS), 68 ℃洗膜 20 min×4 次; 用洗膜液Ⅱ(0.2× SSC, 0.5%SDS), 68 ℃洗膜, 20 min×2 次; 用 2× SSC 室温洗膜 5 min。用 KODAK 胶片, 于－70 ℃放射自显影 24 h, 显影后将 X 线胶片于 UVP 凝胶成像系统打印成像, 通过对比每个克隆杂交信号的强弱进行筛选。

1.7　序列分析和同源性比较

选取 10 个差异表达基因克隆送上海申友生物工程有限公司进行序列测定, 所得结果与 Genbank 中的已知核苷酸序列进行查询和同源比较。

1.8　RT-PCR 验证实验

从 10 个差异表达基因中选取 3 个基因, 根据测序序列设计引物, 以 GAPDH 为内参照, 进行半定量 RT-PCR 反应, 2% 琼脂糖凝胶电泳。用凝胶成像分析系统成像并密度扫描分析 PCR 产物带。为消除系统及定量误差, 差异基因的表达水平以相对表达量即差异表达基因/GAPDH 的比率来计算。

1.9　统计学方法

采用 *t* 检验。

2　结果

2.1　mRNA 的定性定量分析

紫外分光检测显示共提取对照及+Gz 暴露大鼠脑 Poly(A)+RNA 分别为 112 μg 和 108 μg。A_{260}/A_{280}＞1.90。

2.2　dscDNA 两端连接效率检测

dscDNA 与接头连接效率的高低是决定抑制性消减杂交成败的最关键步骤, 将连接有 Adaptor 1、2 的两组 dscDNA 分别用看家基因 GAPDH3′和 GAPDH5′引物以及 PCR 引物进行了 30 个循环扩增, 取 5 μl 产物用 2.0% 琼脂糖凝胶电泳鉴定, 结果显示: 连接效率均高于 80%, 说明 80% 以上 dscDNA 已与接头连接, 见图 1。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net



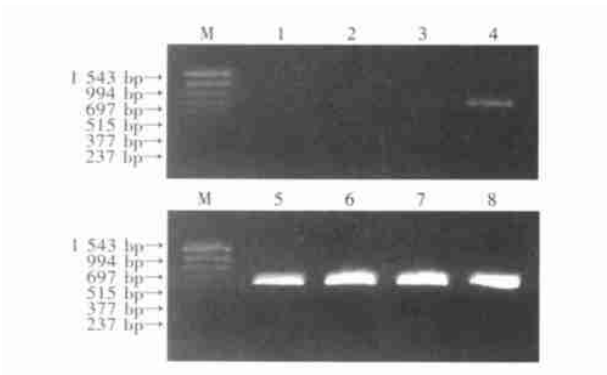
Lane 1: PCR products using Adaptor 1-ligated as the template and the G3PDH 3′ primer and PCR primer 1. Lane 2: PCR product using Adaptor 1-ligated as the template, and the G3PDH 3′ and 5′ primers. Lane 3: PCR products using Tester 1-2 (Adaptor 2R-ligated) as the template, and the G3PDH 3′ primer and PCR primer 1. Lane 4: PCR products using Tester 1-2 (Adaptor 2R-ligated) as the template, and the G3PDH 3′ and 5′ primers. Lane M: PCR markers

图 **1** 连接效率检测

Fig 1 Results of ligation effciency analysis

2.3 cDNA 消减文库消减效率的鉴定

该步骤是评价消减文库价值的决定性环节，各取 1μl 抑制性 PCR 产物和非抑制性产物为模板，用看家基因 GAPDH 为引物进行 PCR 扩增，PCR 反应体系 30μl，分别在 27、32、37、42 循环结束时从体系中吸取 5μl 进行电泳鉴定。结果显示：与非抑制性 PCR 产物相比，抑制性 PCR 产物中非特异性表达 GAPDH 基因产物大大减少，说明构建的消减文库具有很高的消减效率，见图 2。



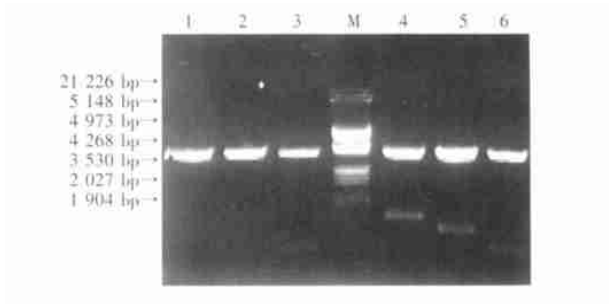
Lanes 1－4 are subtracted PCR products; Lanes 5－8 are unsubtracted PCR products. Lane 1, 5: 27 cycles; Lane 2, 6: 32 cycles; Lane 3, 7: 37 cycles; Lane 4, 8: 42 cycles; Lane M: PCR marker

图 **2** 消减效率的 **PCR** 分析

Fig 2 Reduction of G3PDH abundance by PCR-Select subtraction

2.4 cDNA 消减文库扩增及克隆的初步鉴定

扩增后 cDNA 文库包含约 400 个白色克隆和 100 个蓝色克隆，克隆饱满清晰，随机挑取 75 个白色克隆，制备质粒后，以 *Eco*RⅠ 酶切分析，结果见图 3。



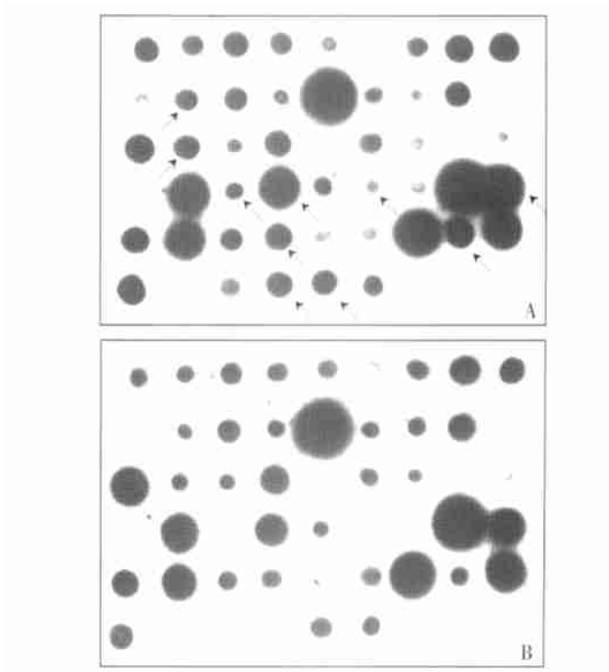
M: λDNA/*Eco*RⅠ *Hind* Ⅲ Marker; Lanes 3－6: Positive clones; Lane 1, 2: Negative clones

图 **3** 克隆酶切分析结果

Fig 3 Identification of clones with restriction endonuclease cleavage

2.5 cDNA 消减文库的筛选

经 SSH 富集的 cDNA 文库克隆入质粒载体后共获得约 70 个克隆，初步选取 50 个进行 PCR 扩增，产物点膜经差示筛选，发现多个克隆显示杂交信号的差异，见图 4。选取其中 10 个克隆作进一步分析。



A: Hybridization with forward subtractive probe; B: Hybridization with reverse subtractiveprobe probe; The arrows show the differential clones to be sequenced

图 **4** 差示筛选 **SSH** 文库

Fig 4 Differential screening of SSH library by dot hybridization

2.6 序列分析及与已知核苷酸序列同源性比较

结果显示，在 10 个表达差异的基因中有 3 个未发现与之明显同源的已知基因，为未知基因，另 7 个为已知基因，它们在

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

大于 200 bp 的序列中与已知基因的同源性大于 90%。各克隆的同源比较如表 1。

表 1　在+10Gz 重复暴露下大鼠脑差异表达的基因

Tab 1　Differentially expressed sequences in rat brain of repeated +10Gz exposures

Clones	Rate of homology (%)	Homologous gene	Genbank No
14#	0	NOVEL	
26#	99	Ribosomal L37	NM031106
40#	0	NOVEL	
41#	100	Cytochrome b	AF295545
43#	96	RIKEN	AK013682
53#	96	Cytochrome C oxidase	M27315
58#	0	NOVEL	
63#	99	Synaptotagmin protein	NM631667
71#	92	Hypothetical protein	BCD16208
72#	94	Dna J(HSP 40)	BC011090

2.7　RT-PCR 验证结果

通过对所选取的 3 个差异表达基因进行 RT-PCR 验证, 发现均在+10Gz 重复暴露组的表达水平明显升高, 见图 5、表 2。



C: Control; G: +10Gz exposure; 1: Clone 58; 2: Clone 53; 3: Clone 72; M: PCR marker

图 5　RT-PCR 验证三个差异表达基因结果

Fig 5　Results of three differentially expressed genes by RT-PCR

表 2　差异基因的半定量 RT-PCR 结果($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Results of Semi-quantitative RT-PCR of differentially expressed genes ($\bar{x}\pm s$)

Clones	Control differentially expressed gene/GAPDH	+10Gz exposure differentially expressed gene/GAPDH	P
58#	0.254±0.024	0.406±0.020	$P<0.01$
53#	0.623±0.023	1.266±0.079	$P<0.01$
72#	0.415±0.015	0.742±0.018	$P<0.01$

3　讨论

已经证实反复高+Gz 暴露可引起脑损伤, 脑神经元形态发生改变、能量代谢障碍和离子平衡紊乱等[3], 这些以往的研究主要通过形态学改变、生理生化指标变化来探讨其病理机制, 而从基因水平探讨+Gz 所致 G-LOC 的机制研究很少。我们借助现代分子生物学新技术从基因水平研究反复高+Gz 所致的脑损伤的发病机制, 可为其防治提供理论依据。近年来用于识别差异表达基因的方法已发展起来多种, 但总起来可分为 3 个层次。① DNA 水平: 定位克隆(Positional cloning)、比较基因组杂交(Comparative genomic hybridization, CGH)和代表性差异分析(Representatinal difference analysis, RDA)。②RNA 水平: 消减杂交(Subtractive hybridization, SH)、差异显示 PCR 技术(Differential display RT-PCR, DDRTPCR)和 DNA 芯片技术。③蛋白质水平: 蛋白质谱差异分析。抑制性消减杂交技术是目前研究差异表达, 尤其是新基因分离鉴定的有效手段[4]。通过抑制消减杂交技术所构建的消减文库与普通的基因文库或 cDNA 文库比较、具有两大突出的优点: ①高度特异性: 对 cDNA 片段装上接头经两轮消减杂交和两轮抑制性 PCR, 大量特异扩增那些代表了差异表达的 cDNA 片段, 抑制了非特异性片段, 使特异性达 60%~95%[1, 5, 6]; ②在第 1 次杂交过程中有 1 个归一化过程, 使高、低丰度序列浓度变的一致, 经过一轮消减即可对稀少片段几个分子富集 1 000~5 000 倍, 这样对低丰度的差异表达基因也能有效地克隆[5, 7]。所以它克服了 DD-PCR 法的假阳性率较高和 RDA 法消减杂交轮次较多的缺点, 以及传统消减杂交不适应于发现低丰度 RNA 信息的缺点, 十分适应于克隆分析造成某种特殊表型的目的基因及其功能。因此在临床医学领域及现代分子生物学领域研究得到广泛应用。通过这种方法找到了许多疾病的相关基因, 甚至是新基因[8~11]。

本研究首次将抑制性消减杂交的方法, 运用在航天医学的研究上, 旨在阐明脑损伤的病理分子机制, 经严格检验成功构建了高特异性的大鼠重复暴露 cDNA 消减文库, 并用差异筛选法从 1/5 消减库中获得 10 个阳性克隆其中有 3 个为新基因片段。经 RT-PCR 验证, 确实在+Gz 反复暴露下脑组织中差异表达。为进一步大批量筛选, 克隆特异表达的未知新基因奠定了基础。本研究获得的 10 个阳性克隆, 经序列分析表明, 它们中的一些与已知基因同源, 有的和蛋白质的合成与分解有关, 它们在脑损伤发展过程中的作用需进一步阐明。另一类是无已知基因与之同源的新基因, 其功能更值得进一步研究。抑制性消减杂交为研究脑损伤的发生, 发展提供重要的突破口, 为航空业正加速度致急性脑损伤的预防, 早期特异性诊断, 基因治疗, 提供了新的重要工具, 为从基因水平去认识和防护+Gz 暴露所引起的脑损伤提供了重要依据。阐明 G-LOC 的发生机制和相关防护措施的防护作用, 为高耐力飞行员的选拔提供了分子基础, 对指导飞行员训练、保障飞行安全、提高空军战斗力具有十分重要的理论意义和指导意义。

参考文献:

[1] Diachenko L, Chris Lau Y F C, Campbell A P, *et al*. Suppression sub-

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

tractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(18): 6025—6030.

[2] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T, *et al*. Molecular Cloning: A Laborogary Manual[M]. New York: Science Press, 1992. 18—24.

[3] 孙喜庆. 反复高G值暴露对脑的潜在影响及其机制[J]. 航天医学与医学工程, 1998, 11(1): 75—78.

[4] Diatchenko L, Lukyanov S, Lau Y F, *et al*. Suppression subtractive hybridization: a versatile method for identifying differentially expressed genes [J]. Methods Enzymol, 1999, 303(3): 349—380.

[5] Gurskaya N G, Diatchenko L, Chenchik A, *et al*. Equalizing cDNA subtraction based on selective suppression of polymerase chain reaction: Cloning of Jurkat cell transcripts induced by phytohemagglutinin and phorbol 12-myristaie 13-acetaie[J]. Anal Biochem, 1996, 240(1): 90—97.

[6] Wang X, Feuerstein G Z, *et al*. Suppression subtractive hybridisation: application in the discovery of novel pharmacological targets[J]. Pharmacogenomics, 2000, 1(1): 101—108.

[7] Von Stein O D, Thies W G, Hofmann M, *et al*. A high throughput screening for rarely transcribed differentially expressed genes[J]. Nucleic Acids Res, 1997, 25(3): 2598—2602.

[8] Justen H P, Grunewald E, Totzke G, *et al*. Differential gene expression in synovium of rheumatoid arthritis and osteoarthritis[J]. Mol Cell Biol Res Com, 2000(3): 165—172.

[9] Wang H, Zhan Y, Xu L, *et al*. Use of suppression subtractive hybridization for differential gene expression in stroke: Discovery of CD44 expression and localization in permanent focal stroke in rats[J]. Stroke, 2001, 32(4): 1020—1027.

[10] Chua E L, Young L, Wu W M, *et al*. Cloning of TC-1(C8orf4), a novel gene found to be overexpressed in thyroid cancer[J]. Genomics, 2000, 69(3): 342—347.

[11] Patzwahl R, Meier V, Ramadori G, *et al*. Enhanced expression of interferon-regulated genes in the liver of patients with Chronic Hepatitis C Virus infection: detection by suppression subtractive hybridization[J]. J Virol, 2001, 75(3): 1332—1338.

(编辑 刘洪娥)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2003)11-0960-01

一种简单、快捷获取细胞图像和视频信息的方法

A simple rapid method for acquiring cell image and video

杨 进, 阎小美, 杨 恬 (第三军医大学基础医学部细胞生物学教研室, 重庆 400038)

随着计算机软硬件在各个领域中的广泛应用, 需将各种素材(图像、声音、文字等)输入到计算机中进行加工处理, 以获得各种分析数据。为了避免传统摄影和摄像技术工作中的繁杂程序及中间转换过程信息的丢失, 我们在实践工作中探索出了一种简单快速地获取图像和视频信息的方法, 并证明应用 CCD 及其相关软硬件同样可以获得很好的图像和视频信息[1], 可广泛地应用于生物医学研究及教学实践中。

1 材料与方法

1.1 实验材料和设备

培养的细胞(或组织切片), Pentium III兼容计算机, 支持 Direct X 5.0 的显卡, 丽台 VC100 图像采集卡, 日本 JVC 公司的 TK-C1381EG 型 CCD, 电缆以及 Leica DM IRB 型倒置显微镜, 软件使用 Windows 98 操作系统和丽台公司的 CapView TV。

1.2 实验内容

①追踪某一阶段细胞的变化过程, 如: 细胞的生长、消化过程、心肌细胞的收缩过程等。②采集细胞图像并进行定量分析, 如: 单位时间内细胞的长度、面积的变化量。

1.3 操作方法

将 CCD 与倒置显微镜的接口相连接, 再将电缆线一端连接到 CCD 的 S 端子上, 另一端连接在计算机的 VC100 卡上。

打开 CCD、计算机和显微镜的电源, 放置好细胞培养瓶, 调好焦距, 打开软件 CapView TV。设定采的画面大小(分辨率: 320× 240), 采集频率(30 帧/s), 色彩深度(24 bit), 色彩亮度、饱和度和对比度[2]、指定文件的保存位置及文件格式。

点击控制面板上的按钮, 细胞图片文件将被保存在指定的位置; 若进行摄像, 需先设定采集的时间, 再点击控制面板上按钮进行采集, 即可捕获细胞变化的录像。

2 结果

采集了SP2/0细胞消化过程的视频信息, 已用于本教研室制作的《细胞培养系列》多媒体教材的视频中。

采集了尿道平滑肌细胞、心肌细胞等的静止图像, 测量出药物等对细胞收缩的影响。

对已获得的细胞图像在单位时间内收缩的长度和面积变化进行了分析[3]。

本方法获得的视频信息和图像在分辨率和对比度等方面效果都很好。

3 讨论

传统获取图像的方式是用相机拍摄, 再经过冲印得到照

(下转 964 页)

作者简介: 杨 进(1976—), 男, 安徽省霍邱县人, 助理实验师, 主要从事细胞生物学方面的研究。电话: (023)68752259

收稿日期: 2002-04-09; 修回日期: 2002-06-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net