DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.06.018

The fidings indicate that the capacity to scavenge free radicals is weakened and lipid peroxidation intensified in the myocardial mitochondria of the injured rats. Consequently,it is deduced that the harmful effects of free radicals might be one of the factors to induce cardiac dysfunction, injury under the same injurious in our previous report.

Key words burns; radiation injuries, experimental; combined radiation—burn injury*; lipid peroxides; mitochondria, heart; rat

将一新分离的人X染色体单拷贝DNA片段定位于Xq12-q13

A new sigle—copy DNA segment of human X chromosome cocalized to Xq12—q13

梁 红 谭 骏 纪贤文 王 燕 毛琼国 （第三军医大学基础部分子生物学教研室）630038

核酸原位杂交技术是利用放射性同位素标记的核酸探针及放射自显影技术在细胞、细胞核及染色体上测定特异的DNA或RNA序列的一种技术，一般称原位杂交。随重组DNA技术、染色体显带技术的发展，用原位杂交技术能将克隆的基因或特异的DNA序列直接并相当准确地定位到染色体的区或带[1,2]。本实验采用原位杂交技术，将新分离到的人X染色体单拷贝DNA片段(DXFD52)成功地定位在X染色体q12-q13上，为进一步的深入研究打下了基础[3]。

1 材料和方法

1.1 试剂

硅化剂。核酸酶A，甲酰胺华美公司产品。含水溶聚蔗糖，聚乙烯吡咯烷酮，牛白蛋白，鲑鱼精DNA均为Sigma公司产品。

1.2 染色体制片按常规方法

用2×SSC配制RNaseA工作液。每张片子加200 μl，37℃处理1 h。用2×SSC充分洗涤，乙醇中脱水。70℃的70%甲酰胺/2×SSC中变性2 min，迅速浸入预冷至－20℃的75%、85%、95%和100%乙醇中脱水至2 min，真空保存。用随机标记法标记探针，检测DNA探针比活力8～9×10^7 cpm/μg。标记的探针，加入至1 ml杂交液。每张片子加200 μl杂交液，覆经硅烷化的盖破片，42℃保温24 h。杂交后洗涤、脱水。覆核4乳胶，D－19显影、定影、洗涤干燥，用1 μg/ml Honechest 33258染色15 min，置紫外灯下，处理45 min，Giemsa染色15 min，镜检[4]。

2 结果

对克隆的人X染色体单拷贝DNA片段DXFD52的原位杂交分析结果表明，99个中期分裂相中，41个(41.41%)在X染色体的杂交点，银颗粒总数为19.03%(51/268)位于X染色体长臂，其中82.35%(42/51)的银颗粒位于Xq12-13之间，而其它染色体上杂交点子为散布的，没有富集区，因此我们将DXFD52定位于Xq12-13区域[5,6]。

3 心得体会

染色体制片，除具有分裂相多，清晰度好外，染色体分散良好，长短适中，本实验均采用2周片龄，杂交结果及显带良好。染色体DNA的变性有70%甲酰胺/2×SSC，70℃可获得良好结果，处理时间不超过2 min[4]。本实验除严格控制DNA探针的纯度外，还采用了随机引物标记法，大大提高了探针的标记效率，进而获得良好的杂交结果。

关键词 X染色体；脱氧核糖核酸复制
中图法分类号 R329.24

参考文献

1 Macgrger HC, Varly JM. Working with animal chromosomes. Chichester: John and Sons,1983:193
2 Mattei MG, Gedeon AK, While SJ, et al. DNA probe localization at 18p113 band by in situ hybridization and idendification of small supernumerary chromosome. Hum Genet, 1985,69:268
3 Harper ME, Haan EA, Richard RI, et al. Localization of a single copy DNA sequences on G－band human chromosomes by in situ hybridization chromosome. Chromosoma, 1981,83:431
4 徐 芸，薛京伦，邱信芳，等. 人体基因组随机单拷贝顺序的分离及其在染色体上的定位. 遗传学报，1990,17(6):469～475
5 Mary BD, Spira J, Perryman MB, et al. Regional localization of carbonic anhydrase genes CAI and CA_3 on human chromosome 8. Somatic Cell Mol Genet,1987,13:173～178
6 Naotoshi R, Mulley JC, Klein G, et al. Human gene coding for granulocyte－colony stimulation factor is assigned to the q21－q22 region of chromosome 17. Somatic Cell Mol Genet,1987,13:679～684

(收稿:1994-06-08;修回:1994-09-10)

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