

# 实验二

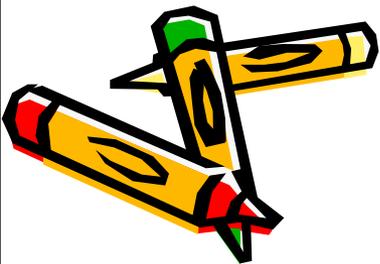
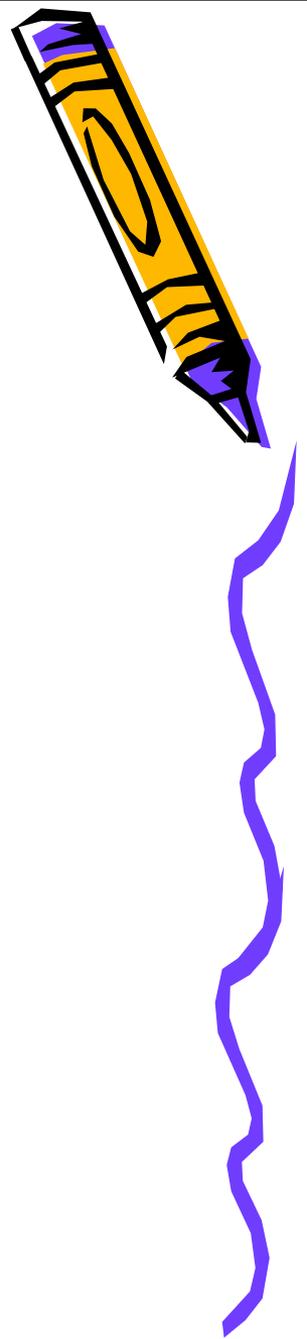
## 显示DNA的方法Feulgen反应



南昌大学生物学实验教学中心  
教师：邓为科

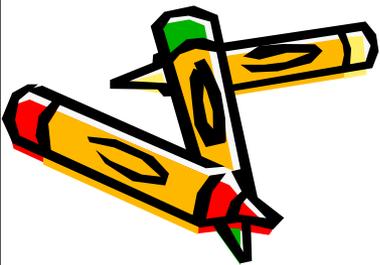
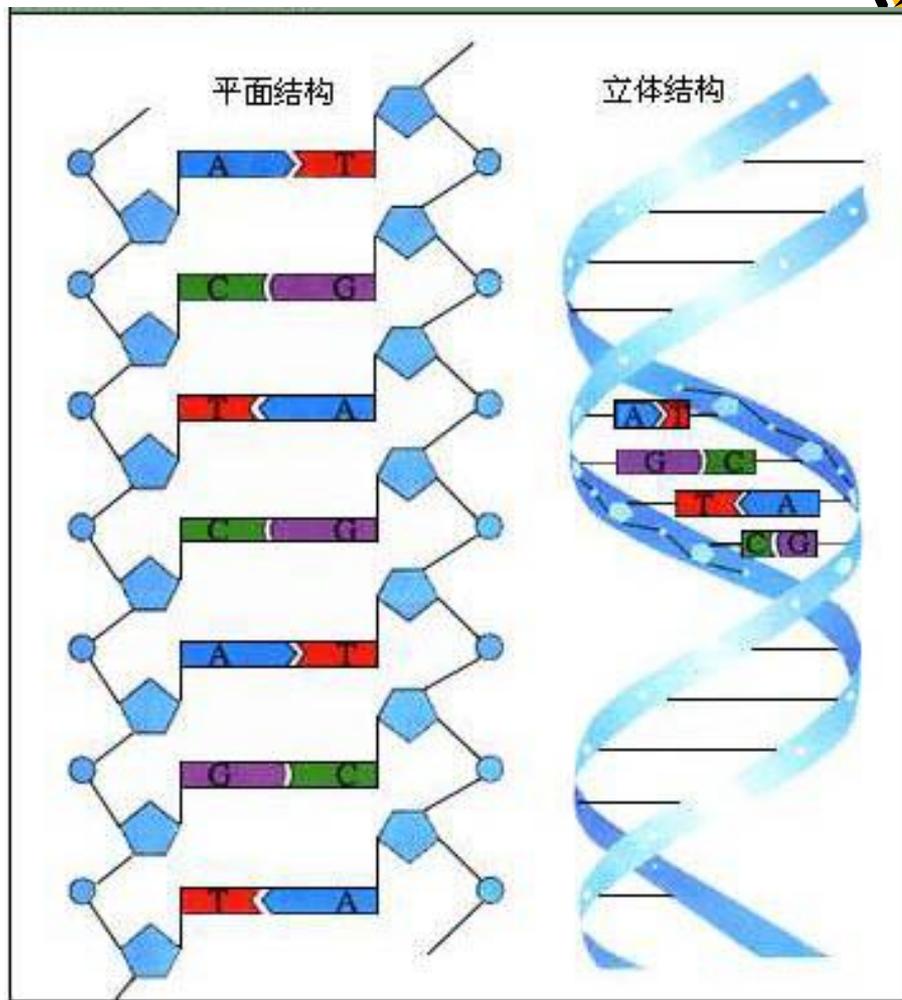
# 一、实验目的

- 了解Feulgen反应原理
- 掌握Feulgen反应的操作方法

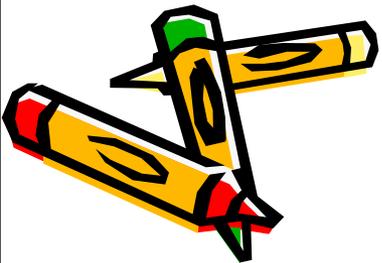
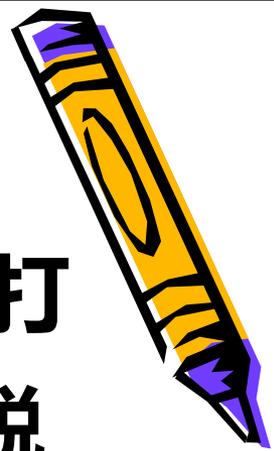


## 二、实验原理

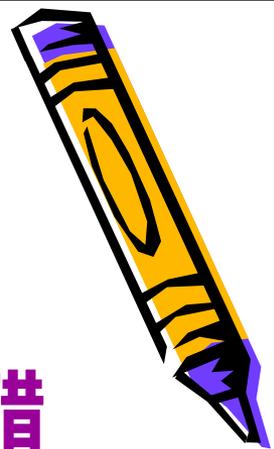
- DNA是由许多单核苷酸聚合成的多核苷酸，每个单核苷酸又由磷酸、脱氧核糖和含氮的碱基构成。



- DNA经弱酸(1mol/L HCl)水解后，打开了嘌呤碱和脱氧核糖连接的键，在脱氧核糖的一端形成游离的醛基。这些醛基就在原位与Schiff试剂结合，形成紫红色的化合物。所以凡有DNA的部位就呈现紫红色。



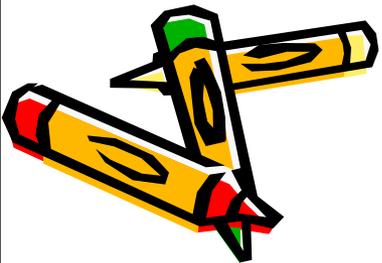
- 材料**不经过水解**，或**预先用热的三氯醋酸**或**DNA酶处理**，得到的反应是阴性的，从而证明了Feulgen反应的专一性。

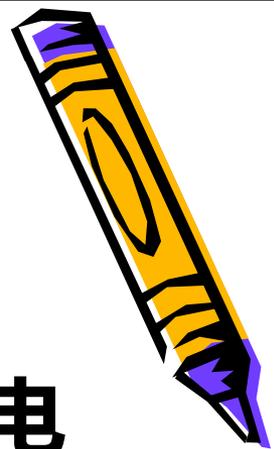






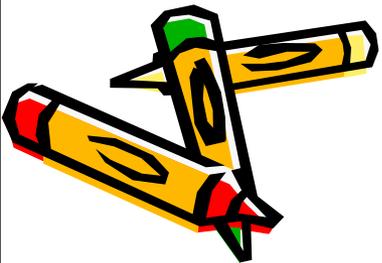
**DNA**染色后，除形成紫红色**C**化合物外，必然有多余的**A**和**B**分子，**B**分子很容易被氧化转变为**A**有色分子，从而造成伪差。因此必须迅速地多次用现配的**SO<sub>2</sub>**水清洗，使**A**分子转变为无色的**B**分子，消除染色的伪差。

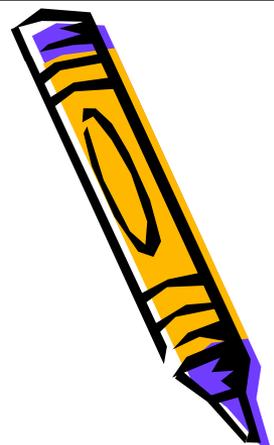




# 三、实验仪器、材料和试剂

1. 仪器、用具：显微镜、**恒温水浴锅**、电子天平、小烧杯、盖玻片、载玻片、双面刀片、纱布等
2. 材料：鲫鱼血细胞
3. 试剂：1mol/L盐酸、Schiff试剂、0.5%三氯醋酸、**亚硫酸水（现用现配）**





## 四、实验方法：

鱼血涂片

↓  
固定 10—15分钟

↓  
95%酒精 ( 10分钟)

↓  
75%酒精 ( 10分钟)

↓  
水洗 2分钟 → 5%三氯醋酸90度15分钟

对照  
1

↓  
水解(1M HCl) (置室温1分钟)

↓  
水解(1M HCl) (60°C8分钟)

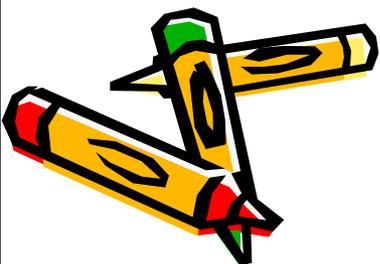
↓  
反应 ( Schiff s) (暗袋中 30分钟)

↓  
洗涤 (亚硫酸水) 洗三次, 每次5分钟

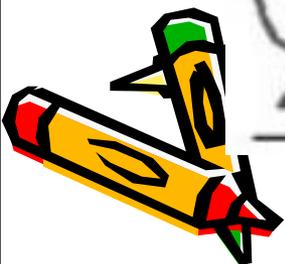
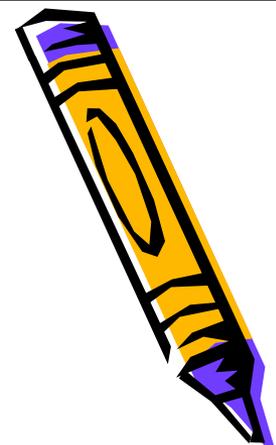
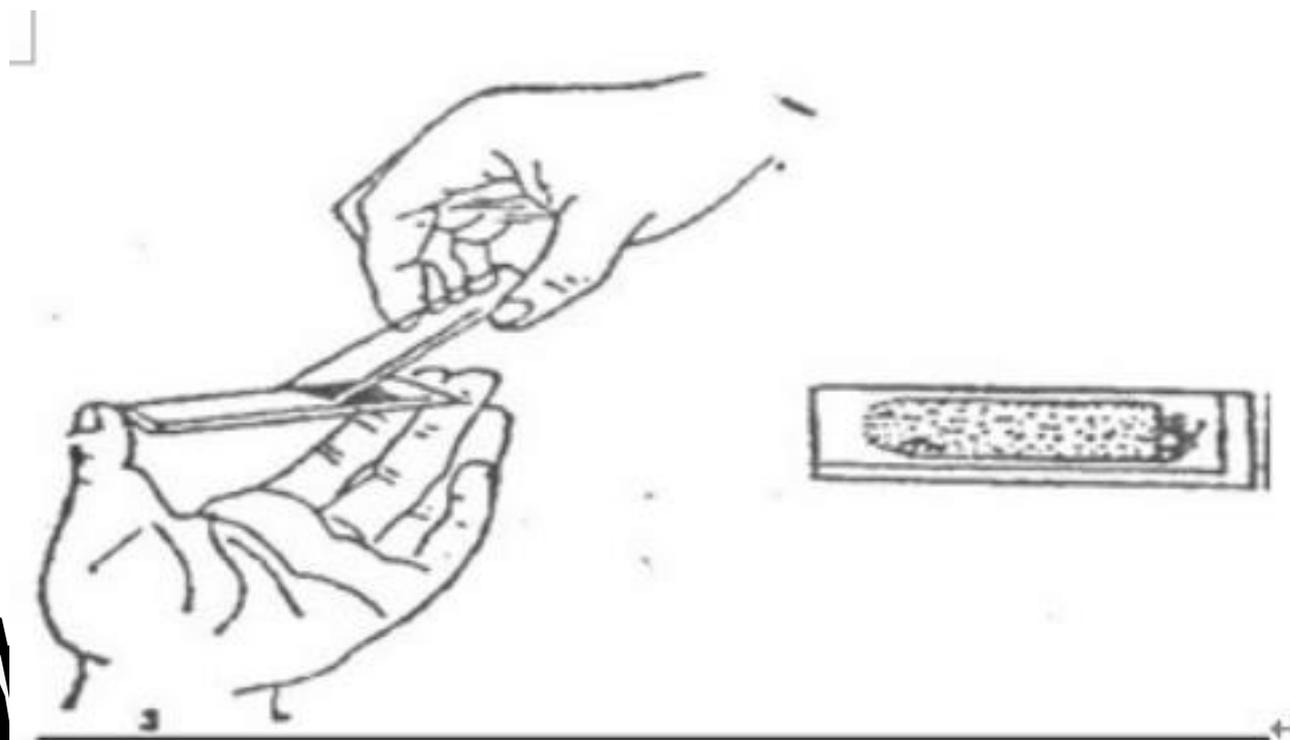
↓  
水洗 5分钟

↓  
镜检

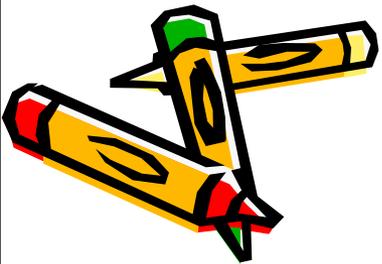
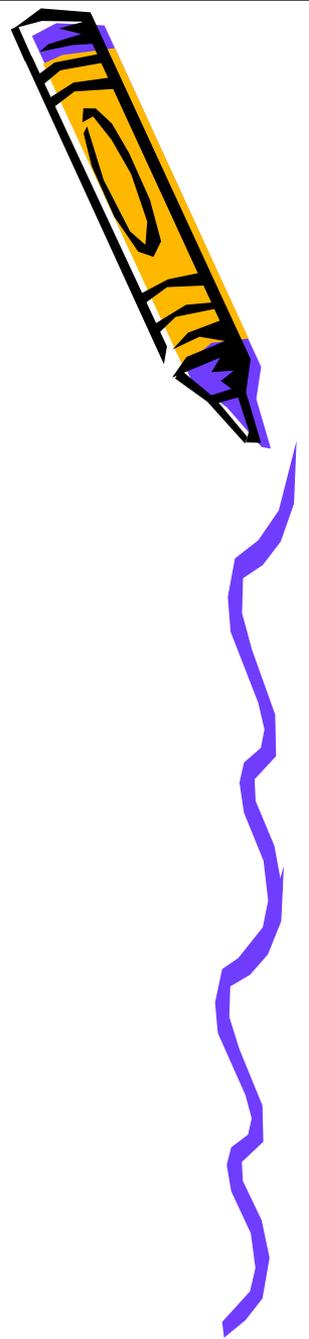
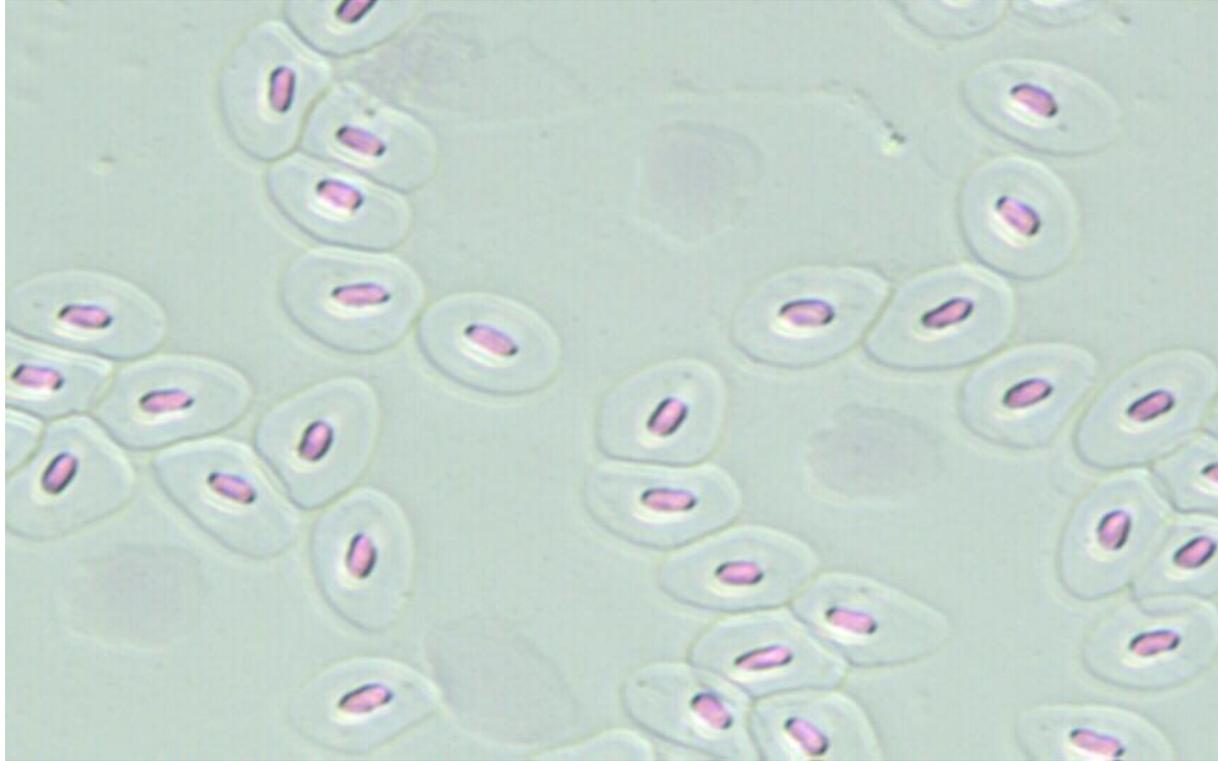
实验组：细胞核呈紫红色，核仁及细胞质呈绿色



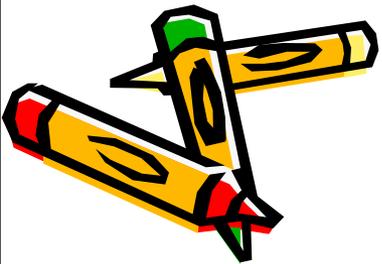
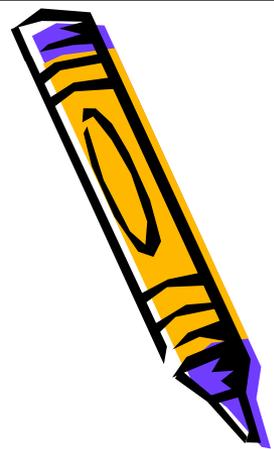
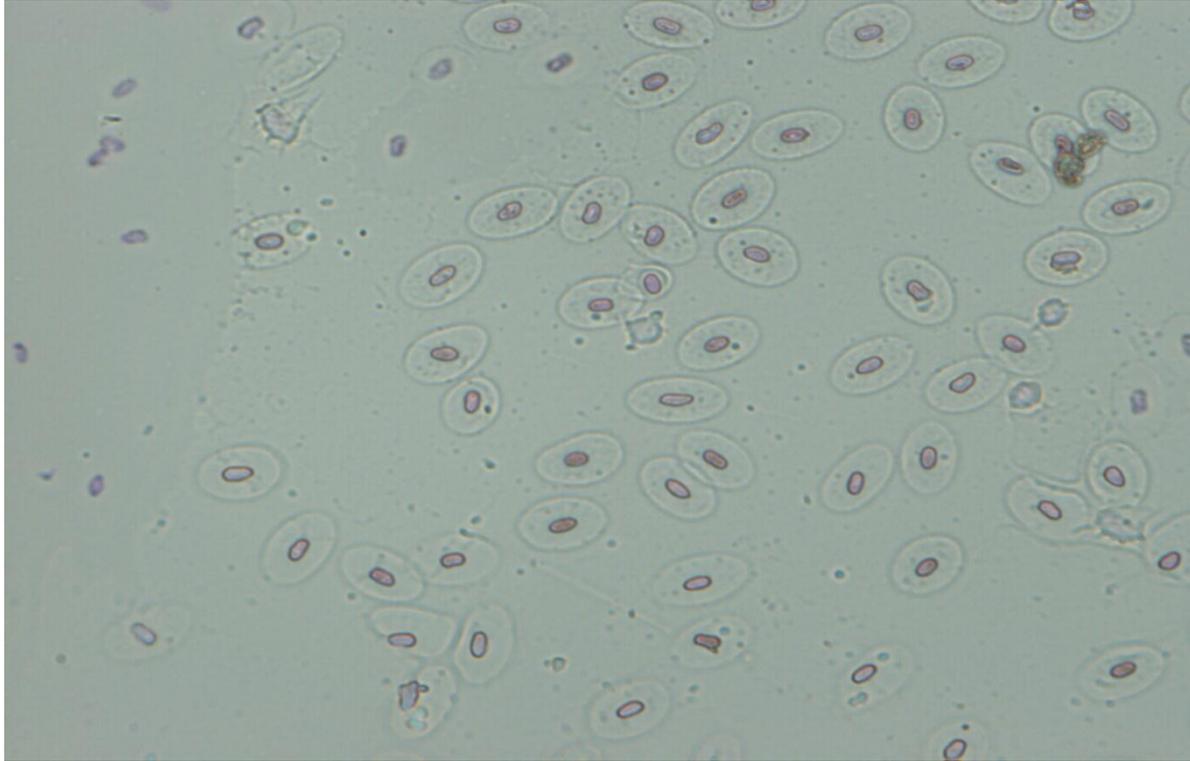
- 血涂片的制备



观察：

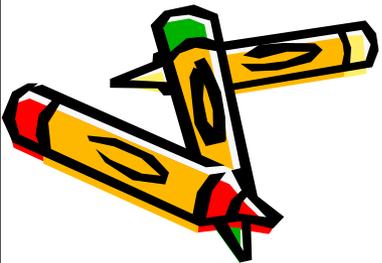


光镜10×



# 五、作业

1. 绘图示鱼血细胞DNA的分布部位（实验组），并描述实验现象。
2. 你选了何种对照方法来证明Feulgen反应的专一性？实验现象是什么？分析观察到的实验现象所产生的原因？
3. 你认为本实验的关键步骤是什么？注意事项是什么？

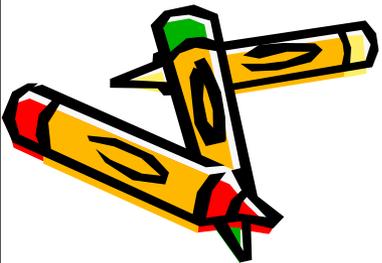


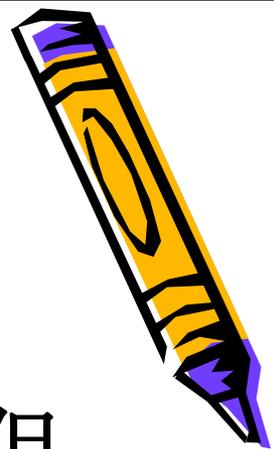


## 六、Feulgen反应应注意的几个问题：

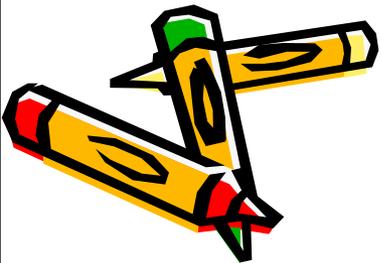
### 1. 对照压片的制做

进行Feulgen反应时，一般要做一对对照压片以便说明实验结果的真实性和可靠性。对照压片材料应在酸解前预先用**5%三氯醋酸（90℃）**处理**10min**，然后再依次进行酸解、染色和压片等。





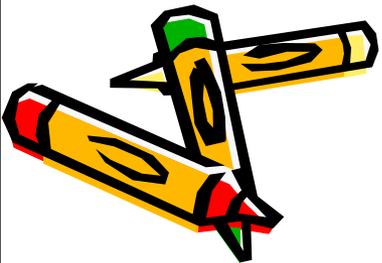
2. **Feulgen**反应通常用稀酸进行水解，但水解的时间一定要适当。如水解时间不够，反应就会变弱；如水解时间过长。或水解地过于剧烈，则脱氧核糖也易掉下来，反应也会减弱。

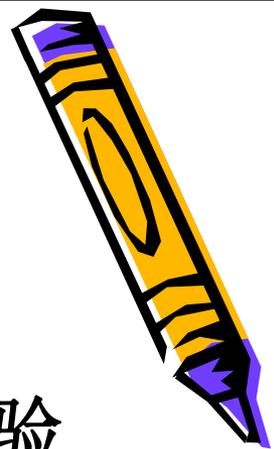




### 3. Schiff试剂的配置与保存

Feulgen反应成功与否的一个非常关键的因素，就是schiff试剂的质量。有一大类试剂均称为碱性品红，它们实际上是由几种产品分别组成的。因此只能选用注明“DNA染色反应用”的碱性品红才行。此外，Schiff试剂的配制方法也可影响DNA的染色反应。配好的Schiff试剂须在5℃以下冰箱内避光保存。





#### 4. 漂白液的重要性:

漂洗时，所用的亚硫酸水，最好在每次实验前临时配制，以便保持较浓的 $\text{SO}_2$ 。

亚硫酸可与碱性品红反应生成品红亚硫酸，从而可以将用Schiff试剂染色时所残留的碱性品红反应掉，以洗去多余的非特异性色素及扩散的染料。

