

课题研究 · 论著

脊髓小脑性共济失调 DNA 规范化检测流程的建立

丁 晔, 谭建强, 华 荣, 王 进, 罗 曼, 舒 伟, 陆俊佳, 袁志刚

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(编号:桂科攻 0632007-1B)

作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学基础医学院(丁 晔, 王 进, 罗 曼, 舒 伟, 陆俊佳, 袁志刚); 545001 广西, 柳州妇女儿童保健院(谭建强); 南宁, 广西壮族自治区人口和计划生育研究中心(华 荣)

作者简介: 丁 晔(1979 -), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 医学遗传学。E-mail: yzzm2011@ yahoo. cn

通讯作者: 袁志刚(1957 -), 男, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 医学遗传学。E-mail: gangzhy@ yahoo. com. cn

[摘要] **目的** 探讨建立遗传病检测规范化的实验流程, 以避免因实验流程不规范造成的失误。**方法** 以脊髓小脑性共济失调 3 型 (spinocerebellar ataxia type 3, SCA3) 为例, 应用 PCR 和测序等技术检测其基因型, 并对标本采集、结果诠释、保存和个人遗传信息的保护等方面做了详细的描述。**结果** 所检测的 6 个家系 21 例患者的 CAG 均出现异常扩增, 他们的基因型与临床诊断吻合。**结论** 遗传检测实验流程的规范化在受检者的基因隐私得到保护的情况下, 不仅可以作为某些疾病诊断的依据, 还能综合评估受检者的患病风险程度, 对于疾病的早期预防具有重要积极的意义。

[关键词] 脊髓小脑性共济失调; DNA 检测; 规范化

[中图分类号] R 394.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674 - 3806(2011)06 - 0502 - 05

doi:10.3969/j.issn.1674 - 3806.2011.06.04

Standardization of the experimental protocol of genetic testing: the DNA testing of spinocerebellar ataxia

DING Ye, TAN Jian-qiang, HUA Rong, et al. Department of Cell Biology and Genetics, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To establish the standard experimental protocol for the genetic testing of spinocerebellar ataxia(SCA) in order to avoid any mistake. **Methods** Taking spinocerebellar ataxia 3(SCA3) as example the genotypes of the patients were tested with PCR, sequencing, and the collection of the samples, the interpretation of the results and the protection of proprietary genetic information etc. were described in detail. **Results** The abnormal amplifications of CAG repeats were present in SCA3 among 21 patients with SCA3 from 6 families. **Conclusion** The standardization of experimental protocol of genetic testing can not only serve as basis of diagnose in some diseases, only when proprietary gene data of the subject is kept with strict secrecy, but estimate the dangerous degree of suffering from disease, and has important and positive significance for early precaution of the disease.

[Key words] Spinocerebellar ataxia; DNA testing; Standardization

现在开展遗传病的 DNA 检测日趋增多, 发达国家对遗传病的 DNA 检测都有一套严格和详细的操作规范, 如澳大利亚悉尼大学皇家阿尔韦雷德王子医院(royal prince Alfred hospital, RPA)分别制定了地中海贫血、亨廷顿舞蹈症等多种遗传病 DNA 检测的指导手册, 以规范标本采集、试剂使用、实验环境、资料保存的全过程。国内不少医院和实验室均能开展包括脊髓小脑性共济失调 (spinocerebellar ataxia, SCA) 在内的 DNA 检测, 但实验流程等方面是否规范, 有待探讨。一套完整的规定和程序, 在很大程度上可保证检测过程和结果符合法律要求, 减少失误, 避免纠纷。我们以脊髓小脑性共济失调 3 型 (spino-

cerebellar actaxia type 3, SCA3) 为例, 就建立我国常见的 SCA 亚型 DNA 检测规范化实验流程进行初步的探讨。

1 材料与方法

1.1 实验流程的根据及条件 (1) SCA 是一种成人发生的与神经系统变性相关的疾病, 尚无特别有效的治疗办法^[1]。有的是散发病例, 有的是遗传而来, 后者多为阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 患者, 常染色体隐性遗传或 X 连锁伴性遗传的少见。AD 患者的后代中发病风险约为 50%, 而且在他们一生的某个时候可能发病, 以中年发病居多。(2) 目前已发现至少 28 种 AD 的 SCA 基因型, 均已

定位,其中 18 个基因被克隆。SCA 的病因与致病基因编码区 CAG 三核酸异常重复突变、基因非编码区 CTG、ATTCT、CAG 异常重复、点突变或缺失突变有关^[2]。有的研究者认为 SCA 的发生可能还与 mtDNA 的突变有关^[3,4]。不同国家、种族或人群中各亚型的频率分布不同。据谢秋幼等^[5]对中国南方汉族人群 SCA 亚型的分布研究报告,各型分布频率分别为:SCA3 频率最高(42.0%),其他依次为 SCA2 (7.4%)、SCA1 (4.9%)、SCA6 (2.5%)、SCA7 (3.7%)、SCA12 (1.2%),这些结果近似于宋兴旺等人的报道^[6-9]。因此,选择检测哪一种亚型,可根据受检者明显的亚型特征和遗传方式作出判断。如果亚型特征不明显,可依据各亚型发病率的高低、频率大小和国内流行病学的调查研究的结果,依次检测 SCA3、2、1、6、7 和 12。如果仍不能检测出来,再与相关的内科医生和遗传咨询医师会商,考虑下一步的检测方案。(3)实验室不能直接采集标本,开展 SCA DNA 检测,检测必须经过受检者签名同意,由神经内科医生(副高以上职称)根据 Harding 标准^[10]进行体征检查后,提出检测的要求。医生应事先告知检测的利弊和风险。

1.2 实验流程的程序 见图 1。

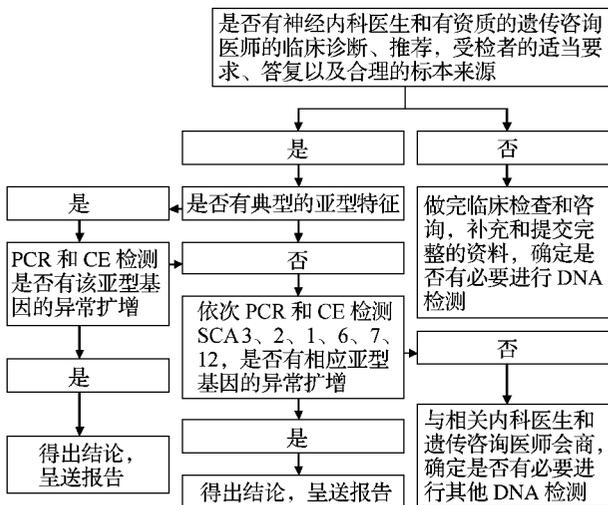


图 1 实验流程程序

1.3 标本采集方式 在同一时间和地点采集每一位受检者的标本 2 份,分别称为第 1 份和第 2 份标本,每份 2 ml 全血,ACD 抗凝。由实验室工作人员取回实验室(实验室不直接采集标本)。实验操作人员应具备卫生行政部门认可的资质。共采集 6 个 SCA 家系的 21 例患者、家系症状前患者 19 例,30 名无血缘关系的正常人做对照组。

1.4 标本命名和编号 实验室对标本重新编号并万方数据

录入计算机。编号的内容与方法包括采集标本的年月日、受检者序号、标本的序号和性别;Y 和 X 分别代表男性与女性。本次检测的第 1 例受检者为女性,有 SCA3 的临床特征;第 2 例是表型正常的男性,来自同一家族。每一例受检者的 2 份标本在同 1 d 采集。如第 1 例受检者的第 1 份和第 2 份标本的实验室编号分别为 200710150101X 和 200710150102X,第 2 例受检者的 2 份标本分别为 200710150201Y 和 200710150202Y。其余受检者依此方法编号,本文以此 2 例描述操作过程。

1.5 DNA 提取 用经典酚氯仿法或试剂盒在不同的时间分别分离提纯 DNA^[11,12],TE 溶解并稀释至 50 ng/μl,用分光光度计确定其浓度,4 °C 保存于不同的冰箱中备用,存放 DNA 标本的冰箱所在的房间内不得存放任何 PCR 扩增的产物,以免污染。分离提纯 DNA 的数据录入计算机。

1.6 PCR 扩增

1.6.1 标本位置与编号 将受检者的第 1 份标本放在同一试管架上,如:200710150101X 和 200710150201Y 标本在架上的位置编号分别为“1”和“2”,PCR 管的编号与标本在试管架上的位置编号相对应,分别为“P1”和“P2”,阴性对照管为“P3”,正常对照管为“P4”。正常对照管是经过多次 PCR、CE 和测序,已知其重复数的正常人标本。第 2 份标本操作相同。一旦 DNA 从每个标本中取出加入到 PCR 管中,标本马上要放回到试管架上的原来位置。位置与编号记录在实验记录本中。

1.6.2 PCR 引物(以扩增 SCA3 的一对引物为例^[11]) SCA3 F 5' FAM-CCAGTGACTACTTTGATTCG-3'; SCA3 R 5'-CTTACCTAGATCACTCCCAA-3'。

1.6.3 PCR 反应体系 见表 1。依次加入试剂,每加入一种试剂后,用笔打“√”,再加入下一种试剂。记录操作过程。在加 PCR 试剂和 DNA 过程中,EP 管始终置于冰浴中。反应体系中各试剂的量和浓度不要改变。一旦采用达到质量要求的某一品牌的试剂后,不要随意更改。

表 1 PCR 反应体系

试剂	剂量(μl)
10 × Buffer	2.5
MgCl ₂ (20 Mm)	2.0
dNTPs (2.5 Mm)	2.0
SCA3-F (20 pmol/μl)	0.5
SCA3-R (20 pmol/μl)	0.5
DMOS	1.3
Taq 酶 (5 U/μl)	0.2
DNA (50 ng/μl)	1.0
Total	25.0

1.6.4 PCR 循环 95 °C × 2 min, 1 cycle; 95 °C × 1 min, 62 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30 cycle; 72 °C × 7 min, 1 cycle。受检者的第 1 份标本和第 2 份标本分别在 2400 型 PCR 仪和 9700 型 PCR 仪扩增,且第 1 份标本比第 2 份标本迟 1 d 扩增,即第 1 份标本和第 2 份标本的 PCR 扩增在不同时间和不同的 PCR 仪中分别进行。

1.6.5 PCR 产物检测 取 5 μl PCR 产物,用 6% 聚丙烯酰胺电泳检测,电泳道的序号与 PCR 管编号相同,打印电泳检测图,图片正面标记日期和电泳道的序号,在背面用记号笔写上标本的实验室编号、操作者的姓名和日期,用非淀粉胶水粘贴在试验记录本上,图片四周用透明胶封贴。结果录入计算机。

1.7 CE 检测

1.7.1 标本位置与编号 2 例受检者、阴性和正常对照的 PCR 管放在试管架的 1、2、3 和 4 的位置。CE 管与 PCR 管在同一试管架上,但分开 1 行,位置和编号与 PCR 管的相对应,编号分别为 C-1、C-2、C-3 和 C-4。

1.7.2 CE 检测体系 PCR 产物,1.0 μl;去离子甲酰胺,12.0 μl;Rox DNA Size standard 500,0.3 μl。每加入一种试剂后,用笔打“√”,再加入下一种试剂。

1.7.3 CE 检测 涡流旋转混合,96 °C 变性 5 min,冰浴冷却,1 h 内在 ABI3100 遗传分析仪中进行毛细管电泳,Genescan3.7 软件分析 DNA 片段的长度。打印 CE 结果图,图片的处理同 PCR 产物的电泳检测图。结果录入计算机。如实验记录有更改,更改处必须有实验操作者的签名,否则作为无效记录处理,该实验结果不能呈报。存放 PCR 或 CE 试剂的盒子中不可混放其他试剂,PCR 和 CE 试剂不可他用。

2 结果与分析

2.1 CAG 重复拷贝数 按 CAG 重复拷贝数 = [DNA 片段长度 (bp) - CAG 重复序列侧翼区长度 (bp)] ÷ 3 计算。此侧翼区长度为 217 bp。30 名正常对照人群的 SCA3 基因 CAG 重复数为 13 ~ 37 次。6 个家系中的 21 例患者的 SCA3 基因 CAG 重复数为 59 ~ 70 次,30 例散发患者的 SCA3 基因 CAG 重复数为 13 ~ 35 次。6 个家系中 19 例症状前患者的 SCA3 基因 CAG 重复数为 60 ~ 73。每一例受检者第 1 份标本的 CE 结果与第 2 份标本的结果相同。从每个家系的患者中随机选取 2 个进行测序,患者的 CAG 重复数与 CE 检测获得的结果相吻合。其

中,第 1 份标本 200710150101X 和 200710150201Y 和正常对照的 CAG 重复拷贝数分别为 67、73 和 26 bp。

2.2 CE 结果的诠释 如果 2 次 CE 结果一致,则可以出报告。CAG 重复数目 ≤ 40,被检查者未患 SCA3。CAG 重复数目在 41 ~ 58 之间,正常表型的受检者及其后代有患 SCA3 的风险。CAG 重复数目 ≥ 59,结合临床特征,可以明确受检者为 SCA3 患者,其后代有 50% 的发病风险。对于表型正常者,报告的数据可以作为发病风险预期的参考,但不能作出确切发病时间的具体判断。其中 200710150101X 为 SCA3 患者,200710150201Y 无临床症状,为 SCA3 症状前患者。其余受检者的 CE 检测结果也与临床诊断吻合。

2.3 结果的呈送 报告由实验室检测人员和主任签名并密封,直接送至送检医生,或通过医院内部计算机系统将报告呈递至送检医生。由医生向受检者解释结果,他人无权查阅和向受检者解释。检验结果以密封的形式交至被检者。

3 讨论

3.1 国内外有许多医院、公司或实验室开展 DNA 检测,国外的法规相对严格和规范,甚至美国 DNA 检测咨询委员会建议食品和药物管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 应介入 DNA 检测项目的审查,尤其要关注那些对疾病和健康状况预测的 DNA 检测^[13]。据李金涛^[14]调查国内 13 家 DNA 检测公司均没有卫生部临床检验中心颁发的实验室认证许可证明。2007 年国家卫生部颁布的《医疗机构临床检验项目目录》中列出可开展的家族遗传性乳腺癌等 23 项 DNA 检测项目中^[15],亦未见检测的技术标准,亦无实验流程进一步细化的规定。实验流程的规范化是 DNA 检测是否合法、结果是否可靠的关键一环。澳大利亚悉尼大学 RPA 医院经新南威尔士州卫生行政当局认可的流程规定,即使检测技术没有问题,但只要实验流程中的一个环节不规范,其结果就不能作为诊断的依据,如果多个环节不规范,失误率就会增加,难以保证检测结果的真实性。

3.2 详细而有规律的标本、PCR 管、CE 管的编号、位置安排、试剂存放、加样顺序、图片粘贴以及实验记录等详细的规定,均有助于防止标本的混淆、遗漏,有利于 PCR 和 CE 反应顺利进行以及计算机管理和资料的长期保存。随着实验室 DNA 检测项目和种类的增加,操作的规范就更加重要。

3.3 据目前的报道,国内 SCA3 患者的 CAG 重复

数均在 59 以上^[5-9,11]。结合临床特点,可以确诊 CAG 重复数在 59 以上者为患者。如果没有病症,可确诊为症状前患者,但能否估计其发病的时间和范围,如何回答 CAG 重复数介于 41 ~ 58 之间的表型正常者关于其后代的发病风险,虽然正常人和患者的 SCA3 等位基因的 CAG 重复数没有重叠,但不同地区和种族人群 SCA3 患者的 CAG 重复数并不一致,加上延迟显性、动态突变及外显不全等因素均可能影响下一代的发病,故 CE 结果的解释需十分慎重。

3.4 分别用两对引物扩增同 1 个基因,原因有二:第一,两对引物的扩增起到重复、检查和相互印证的作用,保证结果的可靠性;第二,预防其中一对引物与模板 DNA 结合区或其他区域的多态性而可能导致的 PCR 扩增受到干扰或失败。Yu^[16]在检测亨廷顿舞蹈症基因时,发现有些患者的 DNA 序列发生了 G→A 的碱基替换,这种沉默突变可干扰 PCR 扩增,导致错误结果。任何单一引物均无法保证 PCR 扩增不受干扰,应避免使用单一引物进行 DNA 检测^[17]。DNA 的多态性非常复杂,影响 PCR 扩增的因素也很多,这提示采用不止一对引物来保证 PCR 顺利扩增的必要性,尽管在设计引物时可能已经考虑到了这一点。当然也可考虑两对引物混合在一支管中进行 PCR 和 CE 检测,以减少检测费用。设计两对引物时,一对引物应覆盖另一对引物的扩增范围。我们用两对引物分别扩增 SCA3, CAG 重复数的结果一致。

3.5 基因信息有别于其他私人的信息。当受检者有缺陷的基因被他人知晓时,他要承受巨大的心理负担和来自社会等各方面的压力,甚至有被保险公司收取较高的医疗保险金额的可能^[18,19],子女受到的影响也不可忽视。因此需建立一套严格的查阅制度,如检测结果不能像一般化验单那样敞开式收取,应密封发送,使信息仅限于受检者本人和相关医生知道。无本人同意,包括其亲属和其他医生在内的人员均无权查阅。

3.6 我们所讨论的 SCA3 DNA 检测的实验流程的规范化,只是 SCA DNA 检测的规范化的一个方面,鉴于 SCA 亚型的种类繁多,遗传方式和致病机制又各不相同,还有相当一部分 SCA 的发病机制至今未明,文中的引物设计、PCR 体系和反应条件、用于疾病界定的 CAG 重复数等都仍仅是一个探索。一套完整的 DNA 检测的规范化程序仍需要经过大量的研究、摸索和修订。

万方数据

参考文献

- 1 Dueñas AM, Goold R, Giunti P. Molecular pathogenesis of spinocerebellar ataxias[J]. *Brain*, 2006, 129(6):1357-1370.
- 2 Rosenberg RN, Prusiner S, DiMauro S, et al. The molecular and genetic basis of neurologic and psychiatric disease[M]. forth edition. Philadelphia Lippincott Williams & Wilkins, 2008:358-360.
- 3 Aniko G, Katalin K, Anita M, et al. Analysis of mtDNA A3243G mutation frequency in Hungary[J]. *Cent Eur J Med*, 2009, 5(3):322-328.
- 4 王进, 刘慧华, 罗曙光, 等. 遗传性共济失调一家系中发现的线粒体 DNA 突变[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2006, 23(3):323-325.
- 5 谢秋幼, 梁秀龄, 李洵桦. 国内南方人群遗传性共济失调不同基因亚型的分布状况[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(12):161-163.
- 6 宋兴旺, 唐北沙, 江泓, 等. 湖南汉族人群遗传性脊髓小脑型共济失调患者三核苷酸突变频率分布[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2006, 31(5):702-705.
- 7 Tang B, Liu C, Shen L, et al. Frequency of SCA1, SCA2, SCA3/MJD, SCA6, SCA7 and DRPLA CAG trinucleotide repeat expansion in patients with hereditary spinocerebellar ataxia from Chinese kindreds[J]. *Arch Neurol*, 2000, 57(4):540-544.
- 8 黄智恒, 徐评议, 梁秀龄. 广东汉族人遗传性脊髓小脑性共济失调基因突变的研究[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2002, 28(4):248-251.
- 9 姜森, 金春莲, 林长坤, 等. 东北地区正常汉族人群 SCA1 及 SCA3/MJD 基因内 CAG 重复变异研究[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2004, 21(1):83-85.
- 10 Harding AE. Clinical features and classification of inherited ataxias[J]. *Adv Neurol*, 1993, 61:1-14.
- 11 谭建强, 汪萍, 胡启平, 等. 广西地区脊髓小脑性共济失调病人的基因诊断和 CAG 重复扩增[J]. *遗传*, 2009, 31(6):65-68.
- 12 袁志刚, 姚永刚, 马志雄, 等. 广西壮族人群线粒体 DNA 序列遗传多态性分析[J]. *遗传学报*, 2001, 28(2):95-102.
- 13 Zadeh N, Getzug T, Grody WW. Diagnosis and management of familial Mediterranean fever; integrating medical genetics in a dedicated interdisciplinary clinic[J]. *Genet Med*, 2001, 13(3):263-269.
- 14 李金涛, 杨磊, 谭晓华, 等. 我国基因检测服务存在的问题和建议[J]. *健康研究*, 2010, 30(1):49-51.
- 15 卫生部医政司. 医疗机构临床检验项目目录[EB/OL]. (2007-06-04)[2009-11-24].
- 16 Yu S, Fimmel A, Fung D, et al. Polymorphisms in the CAG repeat—a source of error in Huntington disease DNA testing[J]. *Clin Genet*, 2000, 58(6):469-472.
- 17 The American College of Medical Genetics/American Society of Human Genetics Huntington Disease Genetic Testing Working Group. ACMG/ASHG STATEMENT laboratory guidelines for Huntington disease genetic testing[J]. *Am J Hum Genet*, 1998, 62(5):1243-1247.
- 18 周元, 蔡善荣, 邓甬川. 基因检测应用的社会伦理问题[J]. 中

国医学伦理学,2008,21(2):102,119.

936.

19 Robert L. Nussbaum. Thompson & Thompson Genetics in Medicine [M]. 7/E, Peking: Peking University Medical Press, 2007: 935 -

[收稿日期 2011-03-07][本文编辑 黄晓红 韦颖]

课题研究 · 论著

4-乙酰氧基苯并恶唑-2-酮对大鼠肝星状细胞增殖抑制的影响

樊惠, 祁平, 刘林, 林军

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(编号:0991123)

作者单位: 530021 南宁,广西医科大学药学院

作者简介: 樊惠(1982-),女,在读硕士研究生,研究方向:生化药理。E-mail:fanhui200440939@163.com

通讯作者: 林军(1962-),男,医学博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:生化药理。E-mail:junlin989@sina.com

[摘要] **目的** 探讨4-乙酰氧基苯并恶唑-2-酮(AcO-BOA)对体外培养大鼠肝星状细胞(HSC-T6)增殖的影响。**方法** 将HSC-T6细胞分别在实验组(AcO-BOA浓度分别为0.008、0.04、0.2、1.0、5.0 mg/ml)及对照组(单纯培养液)中体外培养32 h后,应用四甲基偶氮唑盐法(MTT法)检测细胞增殖情况;荧光倒置显微镜下观察两组HSC-T6细胞的形态学变化。**结果** 实验组HSC-T6细胞的增殖率均低于对照组,浓度为0.008 mg/ml的实验组与对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$);其他浓度的实验组分别与对照组比较差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。AcO-BOA对HSC-T6细胞的增殖抑制率均随着药物作用浓度的升高而逐渐升高;经吖啶橙染色后,在荧光倒置显微镜下观察,均可见细胞数量减少、体积缩小、核破裂、核浓缩等变化,且随着作用浓度的增加变化更加明显。**结论** AcO-BOA对HSC-T6细胞具有抑制增殖的功效。

[关键词] 4-乙酰氧基苯并恶唑-2-酮; 肝星状细胞; 吖啶橙

[中图分类号] R 575.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2011)06-0506-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2011.06.05

Inhibitory effect of 4-acetoxy-2-benzoxazolone on rat hepatic stellate cell proliferation FAN Hui, QI Ping, LIU Lin, et al. *Pharmaceutical Department of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China*

[Abstract] **Objective** To evaluate the effects of 4-acetoxy-2-benzoxazolone(AcO-BOA) on proliferation of rat hepatic stellate cells (HSC-T6) in vitro. **Methods** Rat HSC-T6 was incubated with different concentrations of AcO-BOA (0.008 mg/ml, 0.04 mg/ml, 0.2 mg/ml, 1.0 mg/ml, 5.0 mg/ml respectively) or without AcO-BOA for 32 hours, respectively. The proliferation rates of the HSC-T6 was determined by MTT assay. The morphological changes of the HSC-T6 were observed with inverted fluorescence microscopy. **Results** MTT assay indicated that the proliferation rates of HSC-T6 induced with different concentrations of AcO-BOA were significantly reduced compared with the control group incubated in vitro for 32 h (all $P < 0.05$), except the group whose concentration was 0.008 mg/ml ($P > 0.05$). AcO-BOA significantly inhibited the proliferation of HSC-T6 in a dose-dependent manner. After acridine orange staining, inverted fluorescence microscopy showed the morphological changes of HSC-T6, including depletion in numbers, cells shrinkage, karyorrhexis and karyopycnosis, and the changes were more significant as the concentration increased. **Conclusion** The inhibitory effect on cell proliferation of AcO-BOA really exist.

[Key words] 4-acetoxy-2-benzoxazolone; Hepatic stellate cell; Acridine orange

爵床科红树植物老鼠簕(*acanthus ilicifolius*)又名老鼠怕、软骨牡丹、蚶瓜筋等。一般生长在高盐碱

度热带海滨泥滩和淤泥较厚的海湾,或河口高潮线以下的盐渍土壤,因此老鼠簕的叶细胞一般都具有