

用相互易位的模型动物评价药物对细胞遗传学效应的初步研究¹⁾

孔志明

(南京大学环境科学系环境生物教研室)

染色体异常模型动物的开发和利用已有很多报道。日本学者孙田信一曾用染色体相互易位 (Reciprocal Translocation) 的模型动物研究了染色体异常与胚胎初期发生的关系^[3,4,8]。东海林隆次郎等^[9]亦用相互易位模型动物研究了哺乳类的发生遗传学。但目前国内尚未见报道。

以往所用的哺乳动物大都是小鼠。由于小鼠染色体都是顶端着丝点,缺乏形态特征,识别较为困难。中国仓鼠不但染色体数目少 ($2n=22$),而且具有一定的形态特征,除一对性染色体外,根据其大小和形态,还可将常染色体分为 A (第 1 对、第 2 对)、B (第 3 对、第 4 对)、C (第 5 对—第 7 对) 和 D (第 8 对—第 10 对) 四种类型 (图 1, A), 识别比较容易, 是进行遗传学研究的理想动物。

孙田信一利用正常雌性仓鼠同经 X 线照射的雄性仓鼠交配得到各种不同类型相互易位的仔鼠, 现已开发了 20 个系统的相互易位的类型, 用来研究细胞遗传学效应^[9,10]。

本实验利用相互易位的中国仓鼠, 就药物对细胞的遗传影响进行了初步研究。

材 料 和 方 法

本实验所用动物系日本国爱知县发达障害研究所中国仓鼠近交系 (CHS/Idr) 正常雌性仓鼠同经 X 线照射的雄性仓鼠交配而产生的相互易位中国仓鼠 T(2;10)3Idr, 即第 2 对染色体和第 10 对染色体相互易位的仓鼠 (图 1, B)。

动物体重 38—42g; 饲养条件: 温度 $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 10\%$; 光照: 上午 6 时至下午 6 时; 水和饲料自由摄取。饲料为日本 ORIENTAL 酵母工业株式会社生产的特殊繁殖用固体颗粒饲料。鼠笼每星期替换一次, 并进行高压灭菌。

实验所用药物为丝裂霉素 C (MMC), 分 0.5mg/kg 体重、0.05mg/kg 体重及 0.005mg/kg 体重三个不同剂量组, 腹腔注射给药, 另设一组阴性对照。每组 3 只动物。分别于给药后第 1 天、第 3 天、第 6 天及第 10 天处死, 并于处理前 3 小时, 以 5mg/kg 体重腹腔注射秋水仙素, 取睾丸按常规方法制片, Giemsa 染色, 在低倍显微镜下按玻片顺序寻找背景清晰, 分散良好, 染色体收缩适中的减数分裂 II 中期相细胞, 然后在油镜下进行观察分析。每只动物观察 100 个减数分裂 II 单倍体细胞, 计数由于发生染色体交换而产生的不等长染色体 (unequal-length chromatias) 数目。并用 χ^2 检验法进行显著性测验。

结 果

实验结果如表 1 所示。从表 1 可看出, MMC 诱发相互易位中国仓鼠 T(2;10)3Idr 生殖细胞染色体交换而产生减数分裂 II 不等长

Kong Zhiming: Preliminary Studies on Evaluation of the Effects of Pharmaceuticals Using the Model Animals of Reciprocal Translocation in the Field of Cell Genetics

1) 本实验由日本爱知县发达障害研究所遗传学研究室理学博士孙田信一先生指导。

本文于 1987 年 8 月 7 日收到。

表 1 MMC 诱发产生减数分裂 II 中不等长染色体频率

MMC 处理后时间 (天)	剂量 (mg/kg)	观察细胞数	不等长染色体数目	不等长染色体出现的百分率 (%)	P 值	
1	对照	300	15	5.0	<0.05	
	0.5	300	27	9.0		
	0.05	300	17	5.7		
	0.005	300	15	5.0		
3	0.5	300	28	9.3		
	0.05	300	21	7.0		
	0.005	300	16	5.3		
6	0.5	300	42	14.0		<0.005
	0.05	300	29	9.7		<0.05
	0.005	300	17	5.7		
10	0.5	300	29	9.7		<0.05
	0.05	300	20	6.7		
	0.005	300	16	5.3		

注: 其他未写出 P 值者, 都是 $P > 0.05$ 。

染色体的频率, 在给药后第 1 天, 各剂量组与对照组相比, 均无显著性差异 ($P > 0.05$); 给药后第 3 天当剂量为 0.5mg/kg 体重时, 与对照组相比有显著性差异 ($P < 0.05$), 而其它剂量组与对照组相比, 无显著性差异 ($P > 0.05$); 给药后第 6 天当剂量为 0.5mg/kg 体重时, 与对照组相比, 有极显著性差异 ($P < 0.005$), 剂量为 0.05mg/kg 体重时, 与对照组相比, 亦有显著性差异 ($P < 0.05$), 但剂量为 0.005mg/kg 体重时, 经统计学处理, 与对照组相比无显著性差异 ($P > 0.05$); 给药后第 10 天, 只是当剂量为 0.5mg/kg 体重时, 与对照组相比有显著性差异 ($P < 0.05$), 而其它剂量组与对照组相比, 均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

实验结果表明, 减数分裂 II 不等长染色体出现的频率随 MMC 处理后的时间增加而上升, MMC 处理后第 6 天出现的频率最高, 而 MMC 处理后第 10 天不等长染色体出现的频率有下降的趋势。

讨 论

正常动物的个体细胞减数分裂 I 同源染色体会发生配对, 这种配对称为联会 (synapsis), 发生联会的同源染色体之间形成一种特殊结构, 称为“联会复合体” (synaptonemal compl-

ex), 其结果使细胞中的染色体由 $2n$ 条单价体 (univalents) 变成 n 条二价体 (bivalents)。但在相互易位动物个体中, 减数分裂 I 配对时, 相互易位的染色体 (2 个) 同正常的染色体 (2 个) 会形成四价体 (quadrivalent) (图 1, C), 在分裂时除产生不同形式的配偶子外, 还会由于染色体间发生交换 (crossing-over), 在减数分裂 II 的单倍体细胞中出现不等长的染色体^[6] (图 1, D)。这种不等长染色体出现的频率与受试药物 MMC 的剂量以及给药后的时间有关。

在减数分裂过程中, 同源染色体间发生局部交换的机理是多年来细胞学和细胞遗传学家探讨的重要问题之一。一般认为同源染色体的非姐妹染色体间的交换是在粗线期进行的。交换过程是一种分子水平的反应。从分子水平理解交换的机理, 必须包括 DNA 的断裂和再结合过程^[1,2]。

许多研究表明, 由合线期到粗线期的转变伴随着 DNA 代谢的一系列变化, 一旦同源染色体发生了联会, 有关交换的酶 (与 DNA 切断有关的核酸酶以及与 DNA 断口再结合有关的连接酶) 的活性就会升高^[7]。在粗线期也发生 DNA 合成, 这种合成的 DNA, 称“粗线期 DNA”或“P-DNA”。如果抑制 P-DNA 的合成, 则染色体就会发生断裂。P-DNA 具有保持染色体的完整性的作用, P-DNA 的合成很类似在辐射损伤中出现的修复 DNA, P-DNA 在 DNA 断裂的再结合过程中对断口的修复可能起一定作用^[1,2]。仓鼠经 MMC 诱发后, 不等长染色体出现频率的增加, 可能与 MMC 作用于 P-DNA 的合成代谢或是激活了与交换有关的酶的活性有关。

本实验结果表明, 给予 MMC 第 6 天后, 不等长染色体频率最高, 而给药第 10 天后, 其频率有下降的趋势。这与受试药物在动物体内的代谢情况以及细胞的周期有关。

本研究所用动物为中国仓鼠, 又由于实验是观察减数分裂 II 单倍体细胞, 所以染色体数目很少, 容易观察, 而且交换后形成的不等长染色体在形态上亦很容易识别, 由于观察而产生

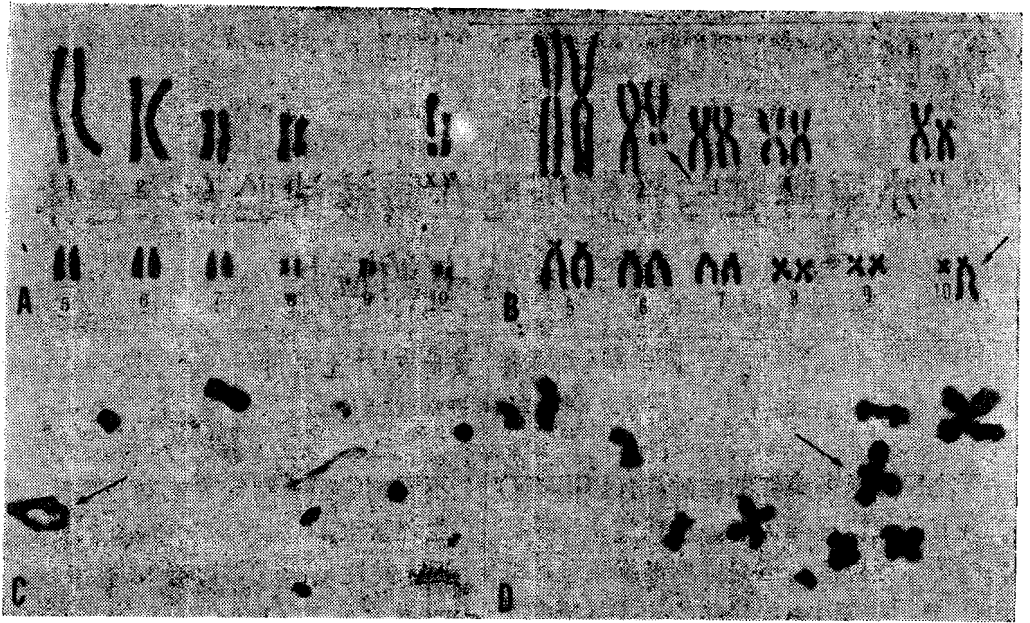


图1 中国仓鼠生殖细胞染色体

A. 中国仓鼠生殖细胞正常核型; B. 相互易位中国仓鼠 T(2;10)3Idr 染色体(箭头示染色体易位); C. 相互易位中国仓鼠 T(2;10)3Idr 减数分裂 I 出现的四价体(箭头所示); D. 相互易位中国仓鼠 T(2;10)3Idr 因染色体交换在减数分裂 II 出现的不等长染色体(箭头所示)。

的实验误差较少。利用相互易位模型动物来评价药物对细胞遗传学的影响具有一定实用价值。

参 考 文 献

- [1] 郝水编著: 1982. 有丝分裂与减数分裂, 高等教育出版社, 167—170。
 [2] 郝水编著: 1983. 细胞生物学教程, 高等教育出版社, 276—279。
 [3] 孙田信一: 1984. 医学のあゆみ, 129(1): 95—99。

- [4] 孙田信一: 1985. 遗传 39(4): 36—42。
 [5] 東海林隆次郎、孙田信一、成瀬一郎、井上英二: 1983. 医学のあゆみ, 126(3): 23—33。
 [6] 押村光雄: 1980. 遗传, 34(5): 20—29。
 [7] Howell, S. H. and H. Stern: 1971. *JMB.*, 55: 357—378。
 [8] S. Sonta, K. Fukui, and H. Yamamura: 1984. *Cytogenet. cell Genet.*, 38:5—13。
 [9] Sonta, S: 1982. *Japan. J. Genetics*, 57:75—77。
 [10] Sonta, S. and H. Oishi: 1982. *Cong. Anom.*, 22: 167—171。

(上接第 14 页)

本试验中发芽势的改变与上述结果存在差异(表 1)。这种差异可能是限于辐射条件, 两次试验的样品较少, 种子数都不到 100 粒, 重复性不好之故, 也可能是由于远红外激光功率面辐照度不均匀性引起的。本试验中还发现, 不同时间的激光处理引起发芽势的变化和同工酶电泳谱变化都在 10 分钟处出现一个转折, 这是否纯属偶然, 也不一定。只有积累更多的数据, 才能从中得出结论。

本文仅就远红外辐射水稻种子引起的当代生物学效应作了一些研究, 有关后代的变异研

究还在继续进行。

参 考 文 献

- [1] 熊守仁等: 1986. 红外研究, 5(3): 167—174。
 [2] 苏锦文等: 1986. 红外研究, 5(3): 161—166。
 [3] 熊守仁等: 1986. 应用激光, 6(1): 33—37。
 [4] 周光宇等: 1979. 遗传学报, 6(6): 405—413。
 [5] 陆仲康: 1985. 遗传, 7(3): 19。
 [6] Fröhlich, H.: 1968. *Inz. J. Quantum Chem.*, (2): 641。
 [7] Pounds, D. E. et al.: 1964. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 122: 713—727。
 [8] Paul, J. S. et al.: 1970. *Exp. Cell Res.*, (60): 166—174。