

三种壁虎染色体核仁组织者的银染色观察 与无蹼壁虎的核型

郭超文 李洁莉^①

(安徽师范大学生物系, 芜湖 241000)

摘要 本文以骨髓细胞为材料, 采用常规制片法和一步银染色技术, 首次报道了无蹼壁虎、铅山壁虎和多疣壁虎的 NORs, 并用 α -巯基乙醇短期培养无蹼壁虎的骨髓细胞, 分析其核型。结果表明, 3 种壁虎都仅显示一对 NORs, 也未见有融合现象。其中无蹼壁虎的 NORs 位于第 18 对染色体的次缢痕区, 而铅山壁虎和多疣壁虎分别位于第 19 对和第 14 对上。另外, 我们从 C 带分析中发现, 铅山壁虎和多疣壁虎的 NORs 位点均为结构异染色质区。经 α -巯基乙醇培养的无蹼壁虎的染色体明显“拉长”, 具次缢痕的染色体可从以往报道的第 19 对调整为第 18 对, 其次缢痕区也比直接制作的标本大而清晰。

关键词 无蹼壁虎, 铅山壁虎, 多疣壁虎, 核仁组织者, 核型

Observation on the Ag-NORs in 3 Species of *Gekko* and the Karyotype of *G. swinhonis*

Guo Chaowen Li Jieli

(Department of Biology, Anhui Normal University, Wuhu 241000)

自从银染色 (Ag-AS) 技术被用于染色体核仁组织者 (NORs) 的染色研究以来, 已证明核仁组织者区域也就是 18s+28s 核糖体基因 (rDNA) 的分布区^[4, 5]。我国壁虎属 (*Gekko*) 中的不少种核型已经报道过^[1, 3]。但中期染色体 NORs 的分布及其活性尚未见报道。本文研究了采自安徽的无蹼壁虎 (*G. swinhonis*), 铅山壁虎 (*G. hokonensis*) 和多疣壁虎 (*G. japonicus*) 的 NORs, 并用 α -巯基乙醇短期培养无蹼壁虎的骨髓细胞, 以增大染色体长度, 提高核型分析的准确性。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

无蹼壁虎 47 只 (28♀, 19♂), 铅山壁虎 20 只 (7♀, 13♂) 和多疣壁虎 20 只 (6♀, 14♂), 分别采自安徽省宿县、郎溪和芜湖安徽师大校园。

^①现工作单位: 安徽淮北煤炭师范学院, 235000。

1.2 方法

每只实验动物按 2-3 微克 / 克体重腹腔注射秋水仙素溶液。3 小时后取骨髓。(1) 用 0.4%KCl 冲洗骨髓细胞, 并直接滴于洗净的载玻片上。用蒸气固定法制作染色体标本⁽²⁾, 空气干燥后用一步银染色技术染色⁽⁶⁾。观察每种动物 10 个分裂相, 确定其 NORs 的分布与活性。(2) 取 8 只雌性和 6 只雄性无蹼壁虎, 分别用 0.75%NaCl 冲出骨髓细胞, 1000 转 / 分离心 5 分钟, 去上清液后再加少量新鲜 0.75%NaCl 收集细胞, 并转入小培养皿中, 加 8 毫升培养液 (RPMI-1640 6 毫升, 小牛血清 1 毫升, 300 微克 / 毫升 α -巯基乙醇 1 毫升), 在 25℃ 温箱中培养 5 小时。常规制片, 空气干燥, Giemsa 液 (pH6.8) 染色。

参照 Sumner 法制备染色体 C 带标本⁽⁸⁾

2 结 果

2.1 NORs 观察

银染核型如图版 I,1-3B。从图中可见, 3 种壁虎都仅显示一对 NORs, 其中无蹼壁虎的 NORs 位于第 18 对染色体的次缢痕区。铅山壁虎的 NORs 位于第 19 对。而多疣壁虎的 NORs 则位于第 14 对的长臂末端区。这 3 个种的 NORs 均无融合现象, 其面积以铅山壁虎最大, 多疣壁虎次之, 而无蹼壁虎最小。特别是铅山壁虎的 NORs 面积大, 而且位于最小的第 19 对染色体。因此, 几乎无法判定其在染色体上的准确位置。



图 1 多疣壁虎和铅山壁虎的银染 (1A、2A) 和 C 带 (1B、2B)

我们分析了多疣壁虎和铅山壁虎的 C 带核型 (见图 1), 并与银染色结果比较, 发现两个物种的染色体均显示着丝点 C 带, 除此以外, NORs 区域也都显示出深的 C 带。C 带带纹面积与 NORs 有对应关系, 即多疣壁虎第 14 对染色体显示着丝点 C 带和长臂端粒 C 带, 而铅山壁虎第 19 对染色体的着丝点 C 带与 NORs 区 C 带相融合, 与大面积 NORs 现象相一致。

2.2 无蹼壁虎的核型

无蹼壁虎核型如图版 I, 1A。与已往报道的结果相比较, 具次缢痕的染色体调整为第 18 对, 这是分析 α -巯基乙醇短期培养细胞的核型以后确定的。另外, 经比较, 短期培养细胞的染色体长度普遍比直接制备的长, 次缢痕区也显得大而清晰。但培养后仍未发现有异型的性染色体。

3 讨 论

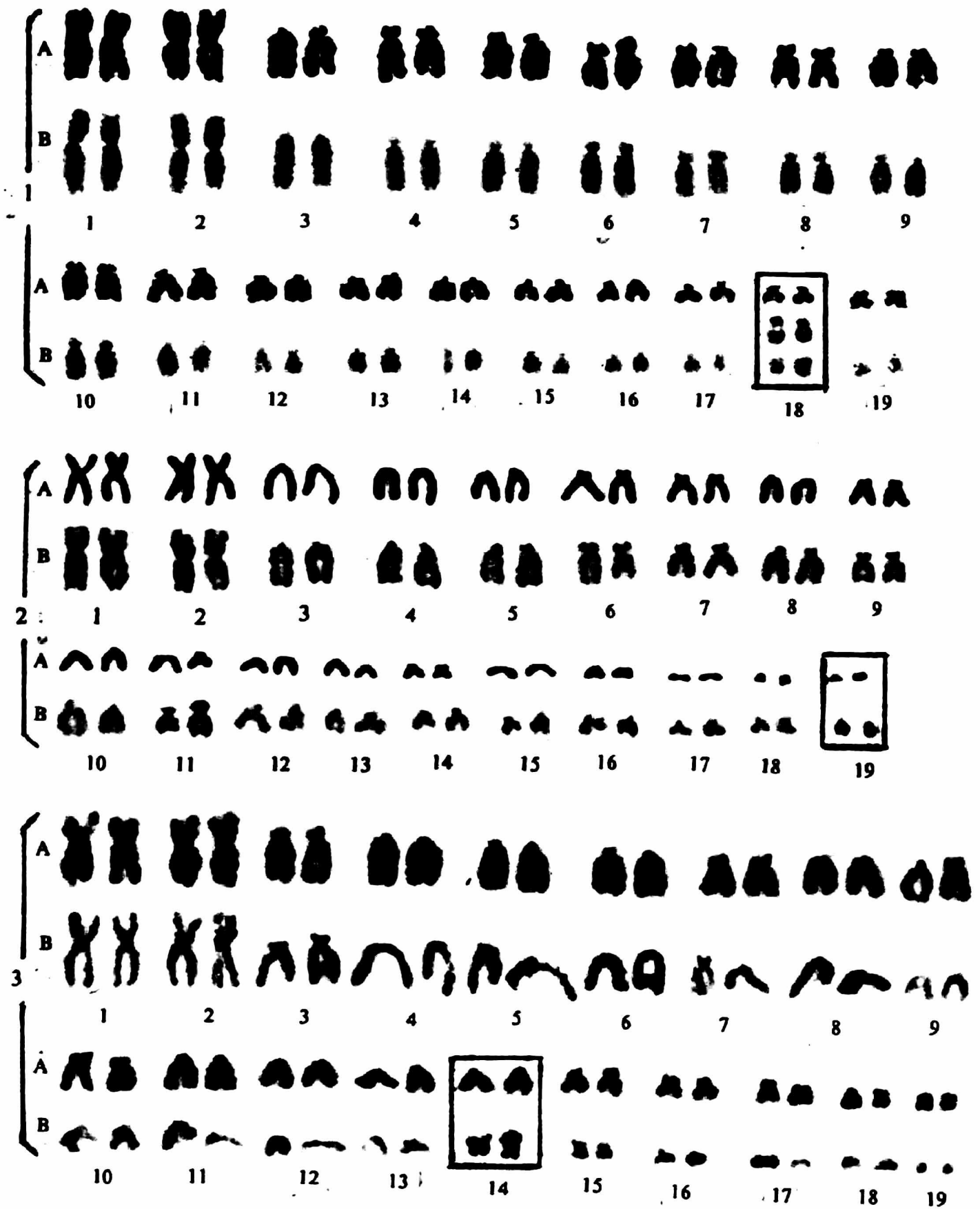
3.1 已经知道核仁组织者区与某一染色体对特定位置有关, 并且随物种的不同而不同, 是研究生物物种性差异与分类的重要特征之一。本文分析的 3 种壁虎中, 均仅显示一对 NORs, 并无扩增现象, 因此, 就 NORs 的数目来说, 可以判定它们是处于同一演化水平的。因为, 据 Schmid⁽⁷⁾ 的观点, NORs 数目多者较特化, 少者原始。但是, 这 3 个种的 NORs 各自分布于不同的染色体对上, 其显色的面积也有不同, 表明在壁虎属中, NORs 的分布和活性具有明显的种性差异。

在许多动物中, NORs 位点亦为结构异染色质区, 这在我们研究多疣壁虎和铅山壁虎中也得到了证明, 说明 NORs 和 C 带带型均是十分重要的细胞分类学特征。

3.2 染色体的聚缩变短是阻碍生物染色体形态结构分析的因素之一, 特别是对小型染色体的分析, 防止过度聚缩或适当“拉长”其长度, 是十分必要的。应用 α -巯基乙醇可打开染色体上非组蛋白的二硫键, 干扰它的高级结构, 从而影响其在染色体上的结合, 这样就能获得较长的染色体。本文用 α -巯基乙醇配成的培养基短期培养无蹼壁虎骨髓细胞, 结果染色体普遍较长, 提高了核型分析的准确性。譬如, 用直接制备的标本分析的核型中, 排在最后的两对小型染色体无法比较其大小, 因此, 在以往报道中, 具次缢痕的染色体被定为第 19 对。经培养的细胞分析的核型中, 则能清楚地看出该染色体对并不是最小的, 应该调整为第 18 对。另外, 次缢痕是染色体重要的形态学特征之一, 根据以往报道, 无蹼壁虎有次缢痕, 我们在直接制备的标本核型中也证明了次缢痕的存在, 但区域很小, 不清楚。经 α -巯基乙醇培养的染色体次缢痕区就显得大而清晰。可见, 用 α -巯基乙醇作短期培养, 以适当增加染色体长度的方法, 对于大小差别不大, 以及小型染色体的形态特征研究, 能取得良好的效果。

参 考 文 献

- (1) 陈俊才等, 1986. 两栖爬行动物学报, 5 (1): 24-29.
- (2) 吴政安, 1982. 遗传, 4 (1): 38-39.
- (3) 吴贯夫等, 1984. 两栖爬行动物学报, 3 (2): 61-64.
- (4) Goodpasture C, et al, 1975. Chromosoma (Berl.), 53: 37-50.
- (5) Hsu T C, et al, 1975. Chromosoma (Berl.), 53: 25-36.
- (6) Howell W M, et al, 1980. Experimentia, 36: 1014-1015.
- (7) Schmid M, 1978a. Chromosoma, 66 (4): 361-388.
- (8) Sumner A T, 1972. Exp. Cell Res., 75: 304-306.



1. 无蹼壁虎的核型(A)和 Ag-NORs(B); 2. 铅山壁虎的核型(A)和 Ag-NORs(B); 3. 多疣壁虎的核型(A)和 Ag-NORs(B).