

东北梅花鹿染色体 C 带和高分辨 G 带研究

赵婉婷, 蔡志华*, 蒋德梅, 樊女权, 温兴福, 姜计

(1. 重庆师范大学生命科学院, 重庆 400047; 2. 重庆市永川松溉职业高级中学, 重庆 402186)

摘要 采用外周血细胞培养、C 分带技术对东北梅花鹿染色体进行研究, 结果表明, 不同地域东北梅花鹿染色体的结构异染色质可能存在于一定程度上的多态性。采用氨甲 呤阻断法使细胞分裂同步化, 结合胰酶 G 显带技术对东北梅花鹿染色体进行研究, 得到了高分辨 G 带核型, 单倍体染色体显带数目增加至 456 条。

关键词 东北梅花鹿; 染色体; C 带; 高分辨 G 带

中图分类号 Q813.4 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)10-02879-02

Study of C-Banding and High Resolution G-Banding of *Cervus nippon hortulorum* Chromosomes

ZHAO Wan-ting et al (Life Science Department, Chongqing Normal University, Chongqing 400047)

Abstract *Cervus nippon hortulorum* were investigated with the peripheral blood cell cultivation and C banding technique. The results showed that the heterochromatin of *Cervus nippon hortulorum* in different areas was probably polytypic in some extent. The high resolution G banding of *Cervus nippon hortulorum* chromosomes were investigated by methotrexate treatment to synchronize cell division and GTG technique. The bands number of haploid chromosomes was increased to 456.

Key words *Cervus nippon hortulorum*; Chromosomes; C banding; High Resolution G banding

东北梅花鹿 (*Cervus nippon hortulorum*) 隶属鹿科鹿属, 主要分布于我国东北, 具有很高的药用价值和营养价值, 是重要的畜牧业资源。笔者通过对东北梅花鹿染色体进行 C 分带和高分辨 G 带的研究, 显示了不同染色体在不同分带条件下的带纹特征, 提高了染色体的分辨率, 有利于对梅花鹿的遗传变异、重要经济性状与 G 带带型的相关性、基因定位等的进一步深入研究。

1 材料与方 法

1.1 试验材料 随机抽样东北梅花鹿 7 头(), 来自重庆永川市松溉职业高级中学养殖场。

1.2 试验方 法

1.2.1 外周血培养及染色体制备。 采血: 锯茸时采茸血, 肝素抗凝。培养液配制: RPM-1640 40 ml, 优等胎牛血清 10 ml, 植物血球凝集素 (PHA) 2 ml, 肝素 0.3 ml, 双抗 0.05 ml (100 单位/ml)。调 pH 值 6.8~7.2, 每瓶分装 5 ml。培养: 每瓶接种茸血 0.3~0.5 ml, 用于 C 分带的细胞直接在 37.5~38.0

下培养 72 h 即可, 收集细胞前 5 h 加入秋水仙素。用于制作高分辨带的细胞在 37.5~38.0 下培养 54~56 h 后, 加入氨甲 呤使其最终浓度为 10^{-7} mol/L, 再置于 37.5~38.0 中继续培养 17 h。RPM-1640 洗涤每瓶细胞 2 次后, 将细胞移至另一新鲜的综合培养液中, 同时加入胸腺 核苷, 最终浓度为 10^{-5} mol/L, 继续培养 4.5 h。加入秋水仙素, 培养 15~30 min。制片: 收集细胞并空气干燥制片。

1.2.2 显带。 C 显带采用 Sumner (1972)^[1] 的方法稍加修改; G 显带采用 Wang 等 (1972)^[2] 的方法稍加修改。

1.2.3 显微照相与分析。 镜检染色体 C 分带分裂相和 G 分带分裂相, 选择分散程度良好、无丢失、背景清晰的分裂相进行显微照相, 放大冲洗。每头梅花鹿各观察 8 个分裂相。

2 结果与分 析

2.1 C 带带型 常染色体仅着丝点处显带, 染色体其余部

分呈 C 阴性带。其中, 第 1、2 号染色体着丝点染色较浅, 仅隐约可见。第 3~32 号染色体的着丝点呈大小不同的深染区。X 染色体是端部着丝粒染色体, 着丝点呈较大的深染区。Y 染色体整体浅染, 着丝点不明显 (图 1)。C 带是显示染色体上异染色质的带型, 异染色质由中高度重复的 DNA 序列组成的^[3], 其转录活性很低, 所以, C 带带型是较稳定的, 对物种鉴别有一定意义。同时, C 带又具有一定的多态性, 这种多态性是由异染色质量的变异组成的^[4], 主要表现在深染区的大小及深浅上。

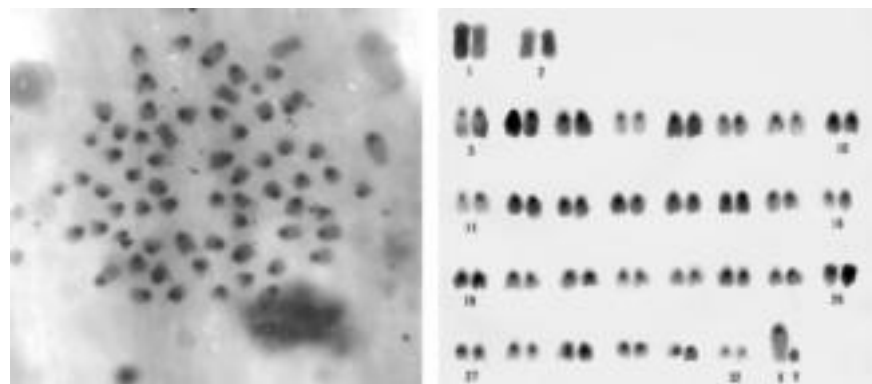


图 1 东北梅花鹿染色体 C 带带型

2.2 高分辨 G 带带型 单套染色体共显带 456 条。根据 Reading 会议和家畜细胞遗传学国际命名体制^[5] (ISCNDA, 1989), 以试验结果为基础, 绘制了梅花鹿高分辨 G 带模式 (图 2、3)。氨甲 呤的加入干扰了脱氧胸腺 核苷酸的合成, 使细胞在 S 期实现同步化^[6], 胸苷的加入使细胞同时开始 DNA 复制和分裂, 而控制加入秋水仙素的浓度^[7] 和收集细胞的时间可以获得较长的染色体。随着染色体的伸长, 合并在一起的带纹逐渐散开, 显现出较多窄而浅的带, 提高了染色体识别的分辨率。试验结果在常规 G 显带^[8] 的基础上增加了 206 条带纹, 平均每条染色体带纹数增加了 84%, 这有利于东北梅花鹿染色体遗传的进一步研究。

3 讨论

(1) 对于端着丝粒染色体, 试验与俞秀璋^[9] 所报道的无明显差别。对于中部着丝粒染色体 (第 1、2 对染色体) 和亚中部着丝粒染色体 (Y 染色体), 其着丝粒比俞秀璋所报道的显带更浅, Y 染色体几乎没有明显的异染色质化。这说明在亚种水平上, 东北梅花鹿可能具有 C 带多态性。

基金项目 重庆师范大学校级项目 (XLY012)。

作者简介 赵婉婷 (1981-), 女, 四川阆中人, 硕士研究生, 研究方向: 药用资源动物学。* 通讯作者。E-mail: caizhihua@cq172.com

收稿日期 2006-12-30

(2) 试验的采样对象系从东北引种至南方并经长期驯化

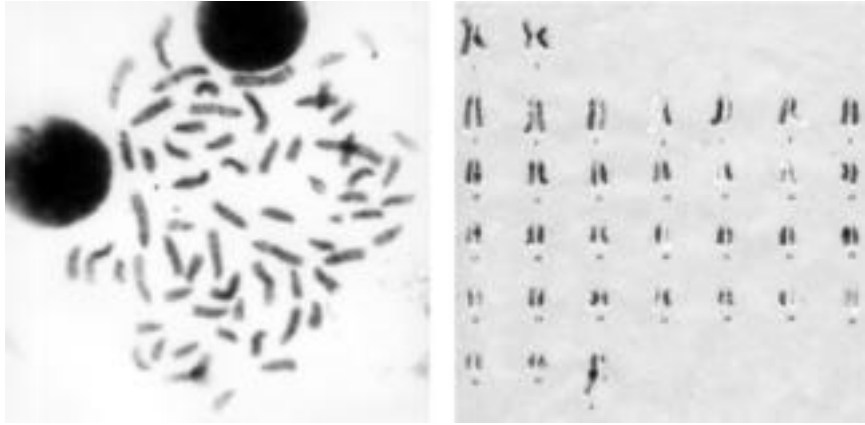


图2 东北梅花鹿染色体高分辨 G 带带型

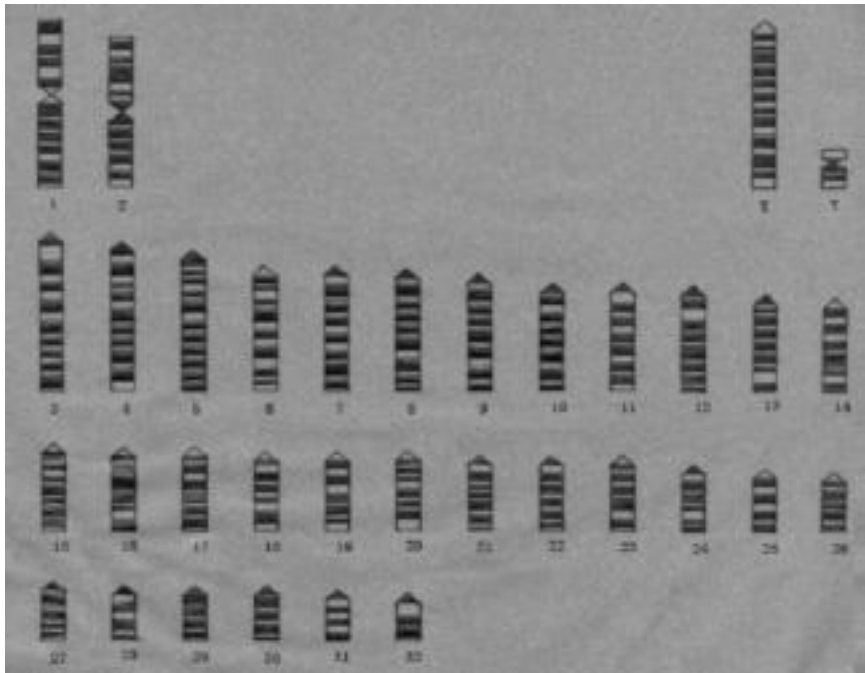


图3 东北梅花鹿染色体高分辨 G 带模式

已能完全适应南方气候和生活环境的东北梅花鹿,由于分布于不同地域的同一物种可能具有染色体多态性^[10],其结构异染色质的改变也有可能是长期环境驯化的结果。所以

对于东北梅花鹿 C 显带的不同结果,是由于东北梅花鹿亚种水平上固有的多态性造成的、还是由于长期环境驯化以致某些遗传物质改变造成的、或者是由于试验条件的差异造成的,有待进一步大样本深入研究。

(3) 为了能从染色体水平上分析东北梅花鹿与其他亚种的进化关系、梅花鹿染色体畸变与其性状的关系,以及基因定位等,还需要更高分辨力的染色体显带。试验显带数目并未最大限度的增加,可能是由于秋水仙素加入的时间和细胞收集的时间不够提前导致染色体已经进入前中期造成的。因此,要得到更高分辨率的染色体显带,应该将加入胸腺核苷继续培养的时间缩短。

参考文献

- [1] SUMNER A T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin[J]. *Exp Cell Res*, 1972, 75:304-306.
- [2] WANG H C, FEDOROFF S. Banding in human chromosomes treated with trypsin[J]. *Nature New Bio*, 1972, 235:52-53.
- [3] BERARDINOD D, HAYES H, FRIES R, et al. International system for cytogenetic nomenclature of domestic animals ISCNA[J]. *Cytogenet Cell Genet*, 1990, 53:65-79.
- [4] JOHN H F. *Handbook of molecular cytology*[M]. London: John Wiley & Sons Inc, 1969.
- [5] COMINGS D E. Methods and mechanisms of chromosome banding[J]. *Methods Cell Biol*, 1978, 17:115-132.
- [6] CAMARGO M, CERVENKA J. Pattern of chromosomal replication in synchronized lymphocytes. I. Evaluation and application of methotrexate block[J]. *Hum Genet*, 1980, 54:47-53.
- [7] 于长江, 杨玉林, 李馨. 微量秋水仙素对高分辨 G-带染色体影响的研究[J]. *黑龙江八一农垦大学学报*, 1995, 8(2):98-101.
- [8] 阳春, 蔡志华, 赵婉婷. 梅花鹿染色体 G-带及模式图[J]. *重庆师范大学学报*, 2005, 22(2):1-4.
- [9] 俞秀璋, 胡振东. 东北梅花鹿的染色体组型 C 分带和 G 分带[J]. *动物学研究*, 1983, 4(4):301-308.
- [10] 张锡然, 朱红阳, 陈宜峰. 广东五种家鼠染色体结构异染色质分布特征研究[J]. *南京师范大学学报*, 1995, 18(1):77-80.