

十一种灵长类染色体核仁组织 者 (NORs) 的比较研究

曹筱梅 陈宜峰 罗丽华 单祥年

(中国科学院昆明动物研究所)

核仁组织者区域 (NORs) 存在 185+285 核糖体核糖核酸 (rRNA) 的密码基因 (rDNA), 可用银染色技术特异性地显示出来。Schwarzacher等 (1978), 用光学显微镜和电子显微镜研究了银染色体的原理, 证明银可染物质是活性NORs周围或外面的酸性蛋白, 而不是基因本身。

许多学者先后以银染色技术, 测定了狨猴 (*Saguinus oedipus*, *Saguinus fuscicollis*, *Callithrix jacchus*)、恒河猴 (*Macaca mulatta*)、食蟹猴 (*M. fascicularis*)、狒狒 (*Papio papio*) 等猴子的核仁组织者区域 (Bedard等, 1978; Goodpasture等, 1975; Dutrillaux等1979)。Tantravahi等 (1976) 对人、黑猩猩猴 (*Pan troglodytes*)、大猩猩 (*Gorilla gorilla*)、猩猩 (*Pongo Pygmaeus*)、银色长臂 (*Hylobates moloch*) 进行了NORs的比较研究。

本文报告了我国灵长类动物 5 个属 11 个种染色体的银染色的NORs (Ag-NORs) 分布, 并作了初步比较。

一、材料与方法

(一) 动物染色体的制片

所研究的动物种类、性别及数量见表 1。其染色体制片, 除树鼯是直接以骨髓和睾丸细胞为材料外, 其余均来自外周血淋巴细胞培养 (陈宜峰等, 1979; 1980)。

(二) 银染色方法

主要按 Goodpasture 等 (1975)、Varley 等 (1977) 和 Hofgärtner 等 (1979) 的方法, 结合本实验室条件加以改良。

1. 溶液

溶液 I —— 予处理液: 50% 硝酸银水溶液。

溶液 II —— 银液: 4 克 AgNO_3 溶于 5 毫升蒸馏水中, 再加 5 毫升浓氨水; 或用非挥发性的三羟甲基氨基甲烷 (Tris) 代替挥发性的氨水, 使染色液的 pH 恒定, 易于控制显色进程, 染色效果较好而且稳定, 其配法是 50% Tris 水溶液 3 毫升和溶液 I 1.4 毫

升混合而成, 0°C保存。

溶液Ⅱ——3%或3.6%福尔马林显影液, 36%福尔马林8.4毫升或10毫升, 加乙酸钠(含3个结晶水)3.3克, 再加水至100毫升, 使之中性化(pH7.1左右)。使用时, 以甲酸分别调至pH5—6和6.6—6.7。

2. 染色

1) 在片子上滴5—7滴溶液Ⅰ, 覆以盖片, 平置于潮湿的培养皿里。

2) 置于手术灯(乳白, 100W)下13—15厘米光照10—20分钟, 或置于50—60°C恒温箱内保温8—20小时。

3) 以蒸馏水洗去盖片并冲洗数秒, 凉干。

4) 显影, 同时滴加溶液Ⅰ和Ⅱ(pH5—6)各2滴, 覆上盖片, 低倍镜下控制显影过程, 染色体臂显示金黄色时, 立即以蒸馏水洗去盖片, 若显影一次着色不足, 可再次显影。或用含Tris的溶液Ⅰ显影, 此时分两步进行, 先同时加入等量的该液和溶液Ⅱ(pH5—6)初步显影, 冲洗后再以同法作第二次显影, 但溶液Ⅱ应是pH6.6—6.7。

二、结果与讨论

(一) 不同种属灵长类Ag-NORs的分布及其比较。

各种灵长类染色体的Ag-NORs位置见表1.及图1—5。

表1 各种灵长类染色体Ag-NORs位置※

种	类	动物数	2n	Ag-NORs位置		
				M	ST	T
树鼩(<i>Tupaia belangeri chinensis</i>)		2(♂, ♀)	62		28 ^{ph} 29 ^{ph}	30 ^{qh}
恒河猴(<i>Macaca mulatta</i>)		2(♂, ♀)	42	20 ^{ph}		
熊猴(<i>Macaca assamensis</i>)		2(♂, ♀)	42	20 ^{ph}		
豚尾猴(<i>Macaca nemestrina</i>)		2(♂, ♀)	42	20 ^{ph}		
短尾猴(<i>Macaca speciosa</i>)		1(♂)	42	20 ^{ph}		
台湾猴(<i>Macaca cyclopis</i>)		2(♂, ♀)	42	20 ^{ph}		
金丝猴(<i>Rhinopithecus roxellanae</i>)		2(♂, ♀)	44	21 ^{qh}		
黑叶猴(<i>Presbytis francoisi</i>)		2(♂, ♀)	44	21 ^{qh}		
灰叶猴(<i>Presbytis phayrei</i>)		1(♀)	44	21 ^{qh}		
白掌长臂猿(<i>Hylobates lar</i>)		2(♂, ♀)	44	21 ^{qh}		
黑长臂猿(<i>Hylobates concolor</i>)		1(♀)	52		23 ^{ph} 24 ^{ph}	

※ M=中着丝点染色体
ST=近端着丝点染色体
T=端着丝点染色体
ph=短臂上次缢痕
qh=长臂上次缢痕

原猴亚目 (*Prosimii*) 的树鼩是最低等的灵长类之一, 其 Ag-NORs 位置, 是两对近端着丝点染色体的短臂末端次缢痕和一对端着丝点染色体的长臂次缢痕处。有时可观察到两对近端着丝点染色体在联会之中, 着染的银点并联成一块。每个细胞的 Ag-NORs 数目为 4—6 个。Ag-NORs 的数量和分布都与其它种属的灵长类不同。

猕猴属的恒河猴、熊猴、短尾猴、豚尾猴、台湾猴等 5 种猴子, Ag-NORs 都是一对对着丝点染色体的短臂次缢痕处 (图 1—3), 与 Dutri-Iliaux 等 (1979) 观察的恒河猴和食蟹猴 (MFA) 的结果一致。如同无带核型、G-带、C-带具有一致性一样 (陈宜峰等, 1980), 它们的 Ag-NORs 分布也具有一致性, 进一步说明本属的这些种之间有很密切的亲缘关系。

在疣猴科 (*Colobidae*) 中, 叶猴属的黑叶猴与灰叶猴的 Ag-NORs 分布也相同, 都在一对对着丝点染色体的长臂次缢痕位置 (图 1、4、5)。金丝猴属的金丝猴, 不仅核型同这两种叶猴比较相似 (陈宜峰等, 1979), 而且 Ag-NORs 的位置也一致 (图 1), 说明它们在进化上比较接近。

黑长臂猿有三对小的近端着丝点染色体, 其中两对的短臂端部具有次缢痕, 在中期细胞中常观察到联会。Ag-NORs 就位于这两对近端着丝点染色体的次缢痕区域 (图 1), 类似于人的 21 号和 22 号以及黑猩猩 (PTR)、大猩猩 (GGO)、猩猩 (PPY) 的 22 号和 23 号染色体的 Ag-NORs 位置。白掌长臂猿与黑长臂猿之间核型差异较大, Ag-NORs 的分布也不相同 (图 1), 其 Ag-NORs 位置与银色长臂猿 (HMO) 相同 (Tantavvahi 等, 1976), 并类似于上述的叶猴。由此可见, 白掌长臂猿与黑长臂猿虽然同属, 而黑长臂猿可能是较为进化的一种。

(二) 次缢痕 (SC) 与 NORs 的关系

恒河猴的 Ag-NORs 位于一对对着丝点染色体的次缢痕处, 与原位分子杂交显示的位置相同, 这已被 Goodpasture 等 (1975) 阐明了。白掌长臂猿的 Ag-NORs 位置也是一对对着丝点染色体的次缢痕区域, 我们得出的结果同 Warburton 等 (1975) 用原位分子杂交显示的结果也是一致的。在疣猴科动物中, 用原位分子杂交已证实疣猴属猴子 (*Colobus polykomos*) 的 rDNA 分布于对标记染色体的次缢痕位置上 (Henderson 等, 1977), 而我们用银染色在金丝猴属、叶猴属猴子中显示的 NORs 位置也是与之相当的。

本文研究的结果表明, 树鼩, 猕猴, 金丝猴、叶猴、长臂猿等属的 11 种猴子, 其染色体的银染色的阳性区, 都在次缢痕区域。在这些物种中, $SC = NORs = rDNA$ 。

大多数灵长类的核型, 都具有不同类型次缢痕的标记染色体 (Chiarelli, 1966; Egozcue, 1974)。作者认为, 本文所研究的灵长类动物, 其标记染色体的形态特征和次缢痕的位置, 大体可分为四种类型 (表 1、图 1)。NORs 的分布及其带型结构, 也同样表现为相应的四种类型。猕猴属 5 种猴子为一种类型。叶猴、金丝猴、白掌长臂猿同属另一种类型。黑长臂猿与迄今已研究过的长臂猿都不同, 它单独为第三种类型。在进化上较原始的物种树鼩, 带 NORs 的是两种不同形态和不同次缢痕位置的染色体, 即为第四种类型。

此外, 在同源的标记染色体中, 两条染色体着染的银块有时表现大小不一, 有的细胞甚至只观察到一条染色体着染。银染色所表现的这些多态现象, 无疑也与次缢痕的多态性有一定的关系。

参 考 文 献

- 陈宜峰、罗丽华、单祥年、曹筱梅 1980 猕猴属四种猴子 (*Macaca mulatta*, *Macaca assamensis*, *Macaca nemestrina*, *Macaca speciosa*) 的染色体比较研究。动物学研究 I:91—100.
- Bedard, M. T., N. S. F. Ma and T. C. Jones 1978 Chromosome banding patterns and nucleolar organizing regions in three species of *Callithricidae* (*Saguinus oedipus*, *Saguinus fuscicollis*, and *Callithrix jacchus*). *J. Med. Primatol.* 7:82-97.
- Chen Yifeng (陈宜峰), Luo Li-hua (罗丽华), Shan Xiang-nain (单祥年), Cao Xiao-mei (曹筱梅) 1979 The karyotype of the golden monkey (*Rhinopithecus r. roxellanae*). *J. Hum. Evol.* 8:597-602.
- Chiarelli, B. 1966 Marked chromosome in Catarrhine monkeys. *Folia primat.* 4:74—80.
- Dutrillaux, B., M.C. Biemont, E.Viegas-Pequignot, and C. Laurent 1979 Comparison of the karyotype of four *Cercopithecoide*: *Papio papio*, *P. anubis*, *Macaca mulatta*, and *M. fascicularis*. *Cytogenet. Cell Genet.* 23:77-83.
- Egozcue, J. 1974 Evolution of the marked chromosomes of primates. *Folia Primat.* 21:148-151.
- Goodpasture, C. and S. E. Bloom 1975 Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma* 53:37-50.
- Henderson, A. S., D. Warburton, S. Megraw-Ripley, and K. C. Atwood 1977 The chromosomal location of rDNA in selected lower primates. *Cytogenet. Cell Genet.* 19:281—302.
- Hofgertner, F. J., M. Schmid, W. Krone, M. T. Zenzes and W. Engel 1979 pattern of activity of nucleolus organizers during spermatogenesis in mammals as analyzed by silver-staining. *Chromosoma* 71:197-216.
- Schwarzacher, H. G., A. V. Mikelsaar and W. Schnedl 1978 The nature of the Ag-staining of nucleolus organizer region. *Cytogenet. Cell Genet.* 22:24-39
- Tantravahi, R. D. A. Miller V. G. Dev and O. J. Miller 1976 Detection of nucleolus organizer regions in chromosomes of human, chimpanzee, gorilla, orangutan and gibbon. *Chromosoma* 56:15—27.
- Varley, J. M. 1977 patterns of silver staining of human chromosomes. *Chromosoma* 61:207—214.
- Warburton, D. A. S. Henderson And K. C. Atwood 1975 Localization of rDNA and Giemsa-banded chromosome complement of white-handed gibbon, *Hylobates lar*. *Chromosoma* 51:35—40.

A COMPARATIVE STUDY ON THE NUCLEOLUS ORGANIZER REGIONS IN CHROMOSOMES OF ELEVEN SPECIES OF PRIMATES

Cao Xiao-mei Chen Yi-feng Luo Li-hua Shan Xiang-nain

(*Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica*)

The distribution of nucleolus organizer regions in chromosomes of eleven primates were investigated by the silver-staining technique. *Tupaia belangeri chinensis*' NORs were located on chromosomes 28ph, 29ph and 30qh. The NORs of five *Macaca* species (*M. assamensis*, *M. nemestrina*, *M. speciosa*, *M. mulatta* and *M. cyclopis*) were located on chromosomes 20ph. In the *Rhinopithecus roxellanae* and *Presbytis francoisi*, *P. phayei* and *Hylobates lar*, their NORs were located on chromosomes 21qh. The gibbon, *Hylobates concolor*'s on chromosomes 23ph and 24ph. NORs in all species studied were confined to different kinds of the marker chromosomes with secondary constriction. Finally, nucleolus organizer regions in chromosomes of these genera and species have been compared with each other. By comparison we can see that the species with the same or similar karyotype have the identical Ag-NORs and their evolutionary relationship are closer.

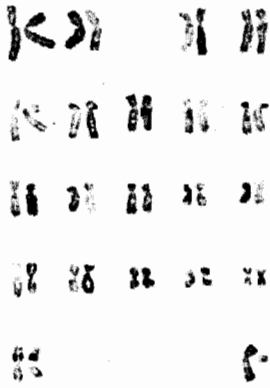


图2. 熊猴 Ag-NORs 染色体组型 (♂)



图4. 黑叶猴 Ag-NORs 染色体组型 (♀)



图3. 熊猴 Ag-NORs 中期染色体 (♂)
(箭头指处为Ag-NORs)

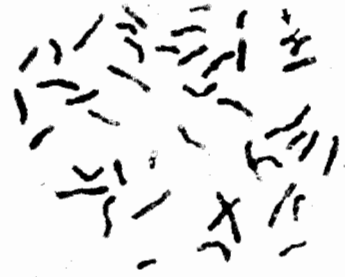


图5. 黑叶猴 Ag-NORs 中期染色体 (♀)
(箭头指处为Ag-NORs)

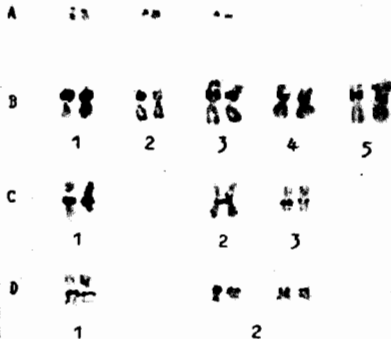


图1. 十一种灵长类的 Ag-NORs

- A. 树鼩 (♂)
- B. 1. 恒河猴 (♂) 2. 豚尾猴 (♀)
- 3. 熊猴 (♂) 4. 短尾猴 (♂)
- 5. 台湾猴 (♀)
- C. 1. 金丝猴 (♂) 2. 黑叶猴 (♀) 3. 灰叶猴 (♀)
- D. 1. 白掌长臂猴 (♀) 2. 黑长臂猴 (♀)