

牛染色体的G带、C带, 姐妹 单体互换的观察*

马正蓉 丁斐 俞秀璋** 黄达春

(复旦大学遗传研究所)

近年来, 由于染色体分带、姐妹单体互换等新技术的发展, 大大促进了对哺乳动物染色体的研究工作。牛的染色体共30对 ($2n=60$), 除性染色体为亚中央着丝粒外, 其余29对常染色体均为端着丝粒, (Melander, 1959; Gustavsson 1969) 只根据着丝粒的位置, 染色体的大小, 很难在彼此间加以区别。因此本文报导了牛染色体的G带、C带分析, 以有助于识别和鉴定牛的各条染色体, 并报道了姐妹单体互换 (SCE) 的自发频率。

材 料 和 方 法

外周血培养: 从黑白花奶牛 (*Bos taurus*) 刚生下1—2天的公牛颈动脉取血, 用RPMI 1640培养液, 基本上按吕群等报道的外周血淋巴细胞培养法培养, 和制备染色体标本。(吕群1979)

1. G分带:

按照Cihangir等的方法 (Cihangir Ozkinay 1979) 作G分带染色。具体做法是染色体标本先经5%Giemsa染色3—5分钟, 漂洗气干, 在室温下放2天, 然后用甲醇冰醋酸(3:1)处理5分钟, 使之退色, 退色片置于60°C烘箱中烘16—24小时, 浸在0.25%胰酶磷酸缓冲液(0.25g胰酶, 0.8gNaCl, 0.3gNa₂HPO₄·12H₂O, 0.02gKCl, 0.02gKH₂PO₄, 加100毫升蒸馏水, pH=7.0)中30秒钟, 取出在GKN溶液(0.1g

*潘家瑾同志为本实验拍摄显微照片谨致谢。

**工作单位: 吉林特产研究所, 1979年在复旦大学遗传学研究所进修期间, 参加一部分实验。

本文于1980年3月18日收到。

本文承项维教授审阅, 谨此致谢

葡萄糖, 0.04gKCl, 0.8gNaCl, 0.035gNaHCO₃加100毫升蒸馏水)中, 漂洗15秒钟, 立即用Giemsa, 磷酸缓冲液(1:4)染色15分钟, 水洗, 气干, 镜检。

2.C分带

染色方法与加藤彦夫报道的Sumner法(BSG—法)(加藤彦夫1973)略有不同, 我们将染色体标本浸于5%Ba(OH)₂水溶液中, 在60°—70°C中处理5—7分钟, 温水漂洗, 然后放在2×SSC溶液中, 在60°—70°C下处理1—1½小时。取出后用水轻轻冲洗, Giemsa磷酸缓冲液(1:10)染色5分钟, 水冲洗, 气干, 镜检。

3.SCE分化染色

我们参照李昌本等的方法(李昌本等, 1979)在全血培养开始时就加入5-溴脱氧尿嘧啶核苷(BUdR), 最终浓度为每毫升培养液10微克, 避光培养68小时, 加秋水仙素后, 继续培养4小时, 制片。染色体标本制成后, 置37°C温箱中过夜。把经过干燥的片子放入88°C1M NaH₂PO₄(pH=8.0)溶液中5—10分钟, 取出后用温水漂洗2次, Giemsa磷酸缓冲液(1:10) pH=6.8染色15—20分钟, 蒸馏水轻轻冲洗, 气干, 镜检。

结果和讨论

一、牛的染色体组型

牛的30对染色体除1对性染色体为亚中央着丝粒外, 其余29对常染色体均为端着丝粒, 因此作核型分析时, 只有最大的和最小的常染色体和性染色体能用常规的形态学标准区分外, 其余的常染色体由于染色体弯曲或收缩, 以及各个实验室操作引起的细微变化, 往往导致错误的分类。1972年Schnedl作了G带核型((Schnell, 1972)以后陆续有这方面的报道。(Evans, 1973; Schnell, 1974)1976年Gustavsson及其同事根据显微摄影照片和每条染色体荧光强度的光电记录, 对牛的染色体逐对进行分析, 制作了牛染色体的G分带模式图(Gustavsson, 1976)。我们所作染色体的G分带, 结果和上述文献报道的带型一致(图一)。此外, 我们也发现牛的X染色体同人的X染色体带型很相似, 二者的三条主带中的一条都在短臂上, 人和牛的X染色体长臂上的末端带都有类似的结构, 差别在于牛短臂上的带相对地比人的短(Schnell, 1972)。人和牛的X染色体带型的相似性, 在进化上是否有什么意义还不清楚。

在作牛的染色体组型分析时, 我们还作了C分带(图一)。我们根据Sumner的方法, 以Ba(OH)₂代替NaOH处理染色体标本, 似更有利于保持染色体原有形态, 得到染色很深的着丝粒图象(图二); 而且, 牛的常染色体同人的常染色体相比, 似更易得到较好的C带图型, 这也许同牛染色体着丝粒周围异染色质的含量或组成有关, 当然这还有待于进一步研究。但是, 我们发现牛的X染色体着丝粒不易显出很深的C带, 只出现淡染现象。Schnedl曾指出, 如果染色体标本在SSC溶液中处理时间较长, 着丝粒就不易染色(1)(Pathak, 1977)。但我们发现在同一细胞的染色体组内, X染色体比常染色体淡染, 这似乎同SSC处理时间的长短无关, 也许决定于染色体本身。

二、SCE频率

牛的细胞和人的细胞一样,在一定条件下,曾出现一定数量的SCE。(图三)但由于各实验室的条件不同,所以数值也不会完全一样。我们挑选细胞轮廓完整,染色体数目 $2n=60$ 的有丝分裂中期细胞30个,逐个计数染色体上出现的SCE数,数据列于表1。

表1 SCE 频率

| 观察细胞数(只) | 观察染色体数(条) | SCE总数 | SCE/细胞的范围 | SCE/细胞 | SCE/染色体 |
|----------|-----------|-------|-----------|---------------|---------|
| 30 | 1800 | 178 | 2—13 | 5.9 ± 1.2 | 0.1 |

根据李昌本等报导的计数标准(1979),端部每一深浅染色交替记为一次互换,染色单体中间出现的深浅染色交替记为二次互换。牛染色体平均每个细胞的SCE自发频率是 5.9 ± 1.2 ,每条染色体为0.1个SCE,这个数据同Pathak等人报导的比较接近(1977),他们观察了25个分裂相,每个细胞平均出现7.8个SCE,SCE数的范围为每个细胞5—14个。

目前,在医学细胞遗传学研究中,SCE已作为检出化学诱变剂和化学致癌物的灵敏指标,而且有些遗传病患者或肿瘤患者的SCE频率高于正常人,但在动物中尚未见到类似报导。弄清楚大家畜的自发SCE频率,也许对发现和诊断家畜的某些疾病会有所裨益。

参 考 文 献

- 加藤彦夫 1973 染色体的染め分けのテクニック。遗传 7:38—44。
- 李昌本等 1979 哺乳动物姐妹染色单体互换检测化学物质诱变性及同Ames氏法相比较。实验生物学报 12:131—137。
- 吕群等 1979 几种家畜淋巴细胞培养方法和染色体组型。遗传 2:29—31。
- Cihangir Ozkinay et al. 1979 A simple trypsin-Giemsa technique producing simultaneous G- and C-banding in human chromosome. *Hereditas* 90: 1—4.
- Evans, H. J. et al. 1973 chromosome homology and heterochromatin in goat, sheep and ox studied by banding techniques. *Chromosoma* 42: 382—402.
- Gustavsson I. 1969 Cytogenetics, distribution and phenotypic effects of a translocation in Swedish cattle. *Hereditas* 63: 68—169.
- Gustavsson I. et al. 1976 Recognition of the cattle chromosome by the Q- and G-banding techniques. *Hereditas* 82: 157—166.
- Melander, Y. 1959 The mitotic chromosomes of some cavicorn mammals (*Bos taurus* L., *Bison bonasus* L. and *Ovis aries* L.) *Hereditas* 45: 649—664.
- Pathak, S. et al. 1977 Rate of sister chromatid exchanges in mammalian

cells differing in diploid number. *Experientia* **33**: 875

Schnell, W. 1972 Giemsa banding quinacrine fluorescence and DNA-replication in chromosome of cattle (*Bos taurus*). *Chromosoma (Berl.)* **38**: 319—328.

Schnell, W. et al. 1974 Centromeric heterochromatin and comparison of G-banding in cattle, goat, and sheep chromosome (Bovidae). *Cytogenetics and Cell Genetics* **13**: 246—255.

OBSERVATION ON THE GIEMSA G-, C-BANDING AND SCE OF CATTLE (*BOS TAURUS*) CHROMOSOMES

MA ZHENG-RONG DING FEI YU XIU-ZHANG HUANG DA-CHUN

(INSTITUTE OF GENETICS, FUDAN UNIVERSITY)

Metaphase chromosome specimens were made from leukocyte cultures of a newborn calf according to standard technique. The G- and C-banding patterns were described. These results indicated that the diploid chromosome number of cattle cell is 60. With the exception of the sex chromosome which is submetacentric, all the autosomes appeared to be telocentric. The sister chromatid exchanges were visualized by differential staining with Giemsa. The spontaneous frequencies of SCE in the cells were counted. The mean number of SCE per normal cattle cell is 5.9 ± 1.2 .

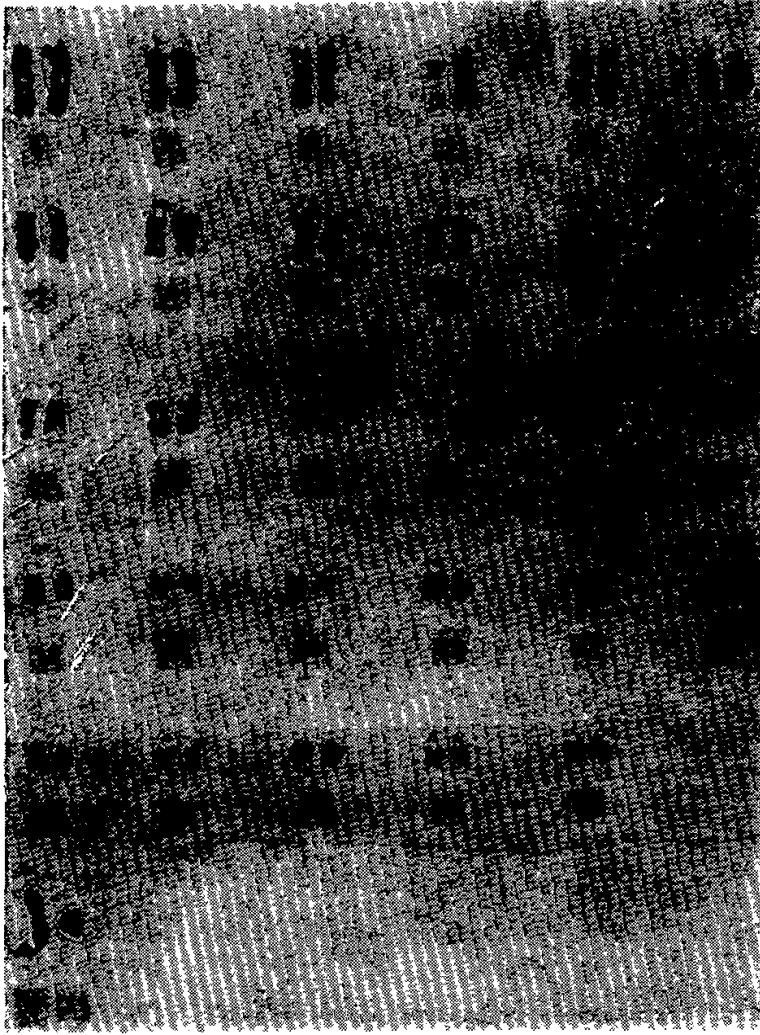


图1 牛的核型—G带 (雄性)

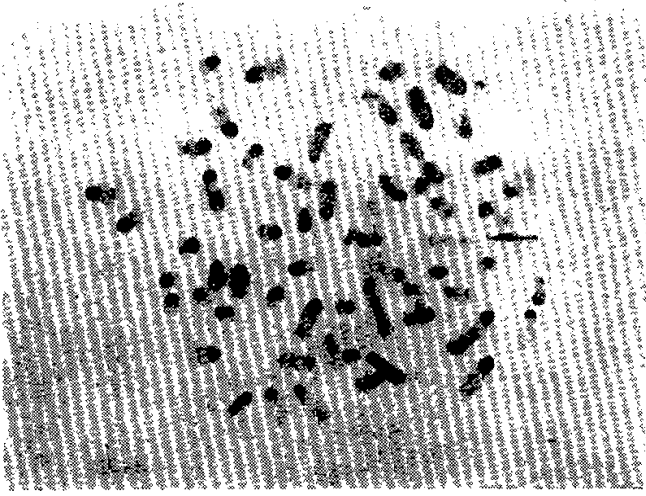


图2 牛的中期染色体—C带(雄性)

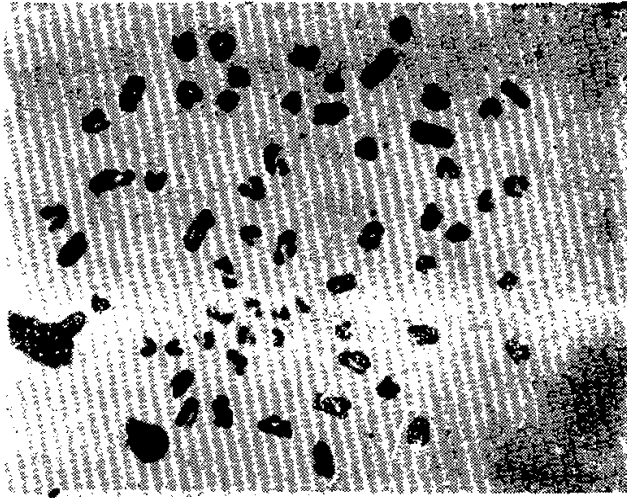


图3 牛的姐妹染色单体互换