

FdU 诱导关中黑猪染色体脆性位点的研究^{*}

雷初朝, 陈 宏, 杨公社, 詹铁生

(西北农林科技大学 畜牧兽医学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 采用家猪外周血淋巴细胞培养法, 以 FdU 作诱导剂, 对关中黑猪染色体脆性位点进行了研究。结果表明, FdU 型脆性位点主要发生于 1p, 1q, 2q, 4q, 6q, 13q, 14q, 15q, 16q 染色体, 其中 1p21, 1q31, 1q32, 2q21, 4q21, 6q21, 13q21, 13q33, 13q41, 14q21, 15q24, 16q14, 16q21 等为脆性位点高发区。最后对脆性位点的分类进行了简要讨论。

[关键词] 关中黑猪; 染色体; 脆性位点

[中图分类号] S828.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2001)03-073-03

染色体脆性位点(fragile site, fra)是指染色体上的特定部位, 该部位在接触特殊的化学物质或一定的培养条件下容易发生断裂、裂隙或重组。这是一种遗传特征。1965年脆性位点首先在人类染色体上发现。自80年代以来, 国内外有许多关于人类染色体脆性位点的报道。关于家猪染色体脆性位点的研究, 国内外报道不多。Riggs 等^[1]用 Aphidicolin(阿非的可淋, 简称 APC), Yang 等^[2]、詹铁生等^[3]用 FdU(5-氟脱氧尿苷), 王子淑等^[4]、王亚军等^[5]用 FdU 加咖啡因、BrdU(5-溴脱氧尿苷), 雷初朝等^[6]用 TdR(胸腺嘧啶核苷)和 FdU 分别诱导家猪脆性位点。人们发现脆性位点是一种非随机性分布的染色体断裂点, 与人类智力低下、癌症、自发流产、体外不育等疾病有一定关系, 与家畜繁殖障碍有关^[7]。本试验用 FdU 对关中黑猪染色体脆性位点发生部位进行了研究, 以期对家猪染色体稳定性、基因定位、遗传疾病产生机理及家畜遗传育种提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 染色体标本制备

关中黑猪(9♂, 7♀)来源于陕西兴平市种猪场。从猪前腔静脉采血3~5 mL, 无菌直接注入培养瓶, 每5 mL 培养基接种全血0.2~0.3 mL, 采用 RPMI 1640 完全培养基(GIBCO 公司)5 mL, 内含50~150 mg/g 小牛血清, 自提 PHA 0.1 mL, 在38.5℃培养72 h, 收获前24 h 加入诱导剂 FdU, 最终质量浓度

为80 mg/L^[3], 收获前1 h 加秋水仙素, 最终质量浓度为0.02 mg/L。采用外周血淋巴细胞培养法制备染色体标本, 空气干燥法常规制片。

1.2 家猪染色体脆性位点的检出

用100 mL/L Giemsa 的 PBS 液染色10 min, 自来水冲洗, 空气中自然干燥。脆性位点鉴别主要以染色体断裂和裂隙作为衡量标准。选择分散良好的中期细胞, 显微摄影, 初步记录脆性位点的位置, 再用胰酶法消化染色体标本得到 G-分带染色体。每个标本观察50~100个分散好的 G-分带中期分裂相, 根据初步记录脆性位点的位置, 对良好的 G-分带染色体性位点进行显微摄影、放大, 然后对脆性位点进行定位分析。

2 结果与分析

2.1 FdU 诱导的染色体脆性位点频率

用质量浓度为80 mg/L 的 FdU 诱导关中黑猪脆性位点, 共检测1 347个 G-分带中期细胞, 其中出现染色体断裂和裂隙的脆性位点数为296个, 脆性位点频率约为22%, 低于 Yang 等^[2]的研究结果(约73%), 高于王子淑等^[4]的研究结果(约8%)。原因可能与 FdU 的诱导剂量及试验猪的脆性位点具有品种特征有关。

2.2 FdU 诱导的染色体脆性位点分布

从表1中关中黑猪染色体脆性位点分布部位可见, FdU 诱导的染色体脆性位点分布于除8号、10号

* [收稿日期] 2000-09-18

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(4130103)

[作者简介] 雷初朝(1968—), 男, 讲师, 湖南常宁人, 在职博士生, 主要从事动物遗传学的教学和科研工作。

和 Y 染色体以外的所有染色体上,它们主要分布于 1p,1q,2q,4q,6q,13q,14q,15q,16q 染色体,说明这 8对染色体为脆性位点高发染色体。其中1p21,1q31,1q32,2q21,4q21,6q21,13q21,13q33,13q41,14q21,15q24,16q14,16q21等出现脆性位点频率很高,X 染色体上也出现脆性位点。一些对照组(只含有正常的培养基,不加诱导剂)比试验组脆性位点频率高,如 1p23,1q22,1q37,2p21,3q21,6p13,6q35,7q23,8q12,12q14,13q37,13q43,14q35,15q22,15q24,16q14,17q13。其原因可能是这些部位是脆性位点易发生区域。

表1 关中黑猪染色体脆性位点分布
Table 1 Distribution of fragile sites in Guanzhong black pig chromosomes

脆性位点 Fragile site	脆性位点分布 Distribution		总计 Total	脆性位点 Fragile site	脆性位点分布 Distribution		总计 Total
	F	C			F	C	
1p12	1	0	1	8q13	1	1	2
1p21	5	0	5	8q21	1	0	1
1p23	1	2	3	8q31	2	0	2
1q13	1	0	1	9q12	1	0	1
1q15	1	0	1	9q21	1	0	1
1q19	1	0	1	9q22	1	0	1
q122	0	2	2	11p13	1	0	1
1q31	4	0	4	11q13	1	0	1
1q32	4	0	4	12q14	0	1	1
1q36	3	2	5	13q21	4	4	8
1q37	0	1	1	13q31	3	0	3
1q38	2	0	2	13q33	9	1	10
1q41	3	0	3	13q37	0	1	1
2p13	1	1	2	13q41	8	8	16
2p21	2	3	5	13q43	0	2	2
2q11	1	0	1	14q12	1	0	1
2q21	13	1	14	14q14	1	0	1
2q23	1	1	2	14q16	1	1	2
2q25	3	0	3	14q21	5	2	7
3q13	0	1	1	14q31	3	1	4
3q21	2	3	5	14q33	3	1	4
3q23	1	0	1	14q35	1	2	3
4q13	1	0	1	15q16	1	0	1
4q21	7	0	7	15q22	1	2	3
5p12	1	0	1	15q24	18	27	45
5q21	2	1	3	15q32	3	2	5
6p13	0	2	2	15q33	2	0	2
6q21	11	2	13	16q14	2	4	6
6q22	1	0	1	16q21	21	16	37
6q27	1	0	1	17q13	0	1	1
6q35	0	1	1	17q14	1	0	1
7q21	1	0	1	17q21	2	0	2
7q22	1	0	1	Xp13	2	1	3
7q23	1	2	3	Xq12	1	0	1
7q31	3	2	5	Xq13	2	0	2
8p31	1	0	1	Xq21	2	1	3
8q12	0	1	1				

注:F 示诱导的脆性位点分布,C 示对照组。
Note,F means FdU induced distribution of fragile sites in pig chromosomes;C means control.

3 讨 论

3.1 FdU 诱导的染色体脆性位点分布

FdU 诱导的关中黑猪染色体脆性位点主要分

布在1p,1q,2q,4q,6q,13q,14q,15q 和16q 染色体,这与王亚军等^[5]用 FdU+咖啡因诱导杜洛克猪脆性位点主要分布于1,2,4,5,7,13,15和16号染色体有一定差异。与雷初朝等^[6]用 FdU 诱导的长白猪脆

性位点主要分布于1q,2q,6q,13q,14q,15q 和16q 染色体基本一致。关中黑猪脆性位点高发区主要分布在1p21,1q31,1q32,2q21,4q21,6q21,13q21,13q33,13q41,14q21,15q24,16q14,16q21。王亚军等^[5]诱导的杜洛克猪脆性位点高发区主要分布在1p21,1q21,1q29,2q21,4q21,5q21,7q24,13q21,13q31,13q41,15q24,16q13,16q21。关中黑猪 X 染色体上有Xp13,Xq12,Xq13,Xq21 4 个脆性位点,该结果与 Riggs 等^[1]、詹铁生等^[3]结果相同,与王子淑等^[4]、王亚军等^[5]、雷初朝等^[6]结果相反,这可能是由于所用猪品种不同所致。大多数染色体脆性位点,如1p21,2q21,4q21,6q21,13q33,13q41,16q21,Xq21 等都发生在 G 分带的浅染区,这与王子淑等^[4]、王亚军等^[5]的结果基本一致。

3.2 脆性位点的分类

目前对脆性位点的分类还没有统一的标准,大

多数学者同意用不同的诱导剂型脆性位点作为分类标准。人们已在鼠类、灵长类、猪、马、牛、兔、狗等动物中发现叶酸敏感型、TdR 型、FdU 型、BrdU 型、APC 型和5-氮胞苷型等不同类型的脆性位点^[7]。还有一种分类法,即把脆性位点分为常见型与罕见型两大类。王子淑等^[4]认为,脆性位点频率高的就是常见型脆性位点,依此观点,在本试验中,关中黑猪的常见型脆性位点可能为1p21,1q31,1q32,2q21,4q21,6q21,13q21,13q33,13q41,14q21,15q24,16q14,16q21,值得注意的是,2q21,6q21,13q33,13q41,15q24,16q21出现的频率特别高。而其他出现频率相对较低的则为罕见型脆性位点。由此说明常见型脆性位点染色体部位是极不稳定的,容易受到外界环境因素的影响,而罕见型脆性位点的染色体部位则相对稳定。

[参考文献]

- [1] Riggs P K, Kuczek T, Chrisman C L, et al. Analysis of aphidicolin-induced chromosome fragility in the domestic pig[J]. Cytogenet Cell Genet, 1993, 62: 110—116.
- [2] Yang M Y, Long S E. Folate sensitive common fragile sites in chromosomes of the domestic pig[J]. Research Veterinary Science, 1993, 55: 231—235.
- [3] 詹铁生, 赵晓初, 冯海鹏, 等. 家猪染色体脆性部位诱导[Z]. 中国遗传学会第五次代表大会暨学术讨论会, 1995.
- [4] 王子淑, 郭方东, 王喜忠, 等. 兰德拉斯猪脆性位点的初步研究[J]. Animal Biotechnology Bulletin, 1996, 5(Sup): 76—79.
- [5] 王亚军, 王喜忠, 陈文元, 等. 杜洛克猪染色体脆性位点的诱导[J]. Animal Biotechnology Bulletin, 1996, 5(Sup): 79—83.
- [6] 雷初朝, 王德堂, 辛晓燕, 等. 家猪染色体脆性位点的初步研究[J]. 西北农业大学学报, 1998, 26(5): 5—8.
- [7] 雷初朝. 动物染色体脆性部位的研究进展[J]. 畜牧兽医杂志, 1998, 17(1): 10—12.

Study on fluorodeoxyuridine-induced fragile sites in chromosomes of Guanzhong Black Pig

LEI Chu-zhao, CHEN Hong, YANG Gong-she, ZHAN Tie-sheng

(College of Animal Sciences and Veterinary Medicine, Northwest Sci-Tech University of
Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: By using the peripheral blood lymphocyte culture method, a study on fragile sites in Guanzhong black pig chromosomes was done with Fluorodeoxyuridine (FdU) as inducer. The FdU-sensitive fragile sites were indentified on chromosomes 1p, 1q, 2q, 4q, 6q, 13q, 14q, 15q, 16q in the main, especially the chromosomes 1p21, 1q31, 1q32, 2q21, 4q21, 6q21, 13q21, 13q33, 13q41, 14q21, 15q24, 16q14, 16q21 were usually high frequency region of fragile sites. The classification of fragile sites was also briefly discussed.

Key words: Guanzhong black pig; chromosome; fragile site