

# 家猪染色体脆性位点的初步研究

雷初朝<sup>1</sup> 王德堂<sup>2</sup> 辛晓燕<sup>2</sup> 杨公社<sup>1</sup> 詹铁生<sup>1</sup>

(1西北农业大学动物科学与动物医学学院,陕西杨凌 712100) (2第四军医大学妇产科,西安 710033)

**摘要** 采用外周血淋巴细胞培养法及常规染色技术,以 TdR 和 FUdR 作诱导剂,对家猪染色体脆性位点进行初步研究。结果显示, TdR 诱导家猪脆性位点的有效处理浓度为 60~80 mg·L<sup>-1</sup>,脆性位点的表达频率为 65% 左右。TdR 型脆性位点主要发生于 1q, 2q, 6q, 13q, 16q 染色体, FUdR 型脆性位点主要集中于 1q, 2q, 6q, 13q, 14q, 15q, 16q 染色体,家猪的脆性位点表达可能存在个体差异。并对脆性位点的类型及生物学意义进行了简要讨论。

**关键词** 家猪,染色体,脆性位点

**分类号** S828.2

脆性位点 (fragile site, fra) 是指染色体上的特定部位,该部位可在接触特殊化学物质或在一定的培养条件下,易形成染色体或染色单体裂隙,导致缺失,无着丝粒片段或多幅图象的形成。这是一种遗传特征。脆性位点首先在人类染色体上发现,迄今已有 30 余年的研究历史。家猪脆性位点的研究,国内外尚处于起步阶段。Riggs<sup>[1]</sup> 用 Aphidicolin (阿非的可淋), Yang<sup>[2]</sup>, 詹铁生<sup>[3]</sup> 用 FUdR (5 氟脱氧尿苷); 王子淑<sup>[4]</sup>、王亚军<sup>[5]</sup> 用 FUdR+ 咖啡因、BUdR 诱导家猪脆性位点。本试验拟对 TdR (胸腺嘧啶核苷) 诱导家猪脆性位点的可行性及剂量效应进行初步研究,对 TdR, FUdR 在家猪染色体脆性位点中的发生部位作出描述,探讨家猪常见型及罕见型脆性位点的类型及生物学意义,从而为家猪染色体的基因定位、遗传疾病产生机理及家畜遗传育种的研究提供基础资料。

## 1 材料与方 法

**染色体标本制作** 长白猪 (12 公: 12 母), 来源于西北农业大学畜牧站种猪场。利用一次性注射器前腔静脉采血, 直接注入培养瓶, 每 5 mL 培养基接种全血 0.2~0.3 mL。100 mL 培养基含 M199 (GIBCO) 1.1 g, 小牛血清 (华美公司) 5 mL, 肝素 2 mL, 自提 PHA 3 mL, 青霉素、链霉素适量, 在 38.5°C 下培养 72 h, 收获前 24 h 加入 TdR 或 FUdR 作诱导剂, 收获前 1~2 h 加入秋水仙碱溶液 (终浓度为 0.02 mg·L<sup>-1</sup>)。采用外周血淋巴细胞培养法制作染色体标本, 空气干燥法常规制片。用 Giemsa 染色。

家猪染色体脆性位点的检出 用 1:10 Giemsa 的 PBS 液染色 10 min, 自来水冲片, 空气中自然干燥。脆性位点主要以染色体断裂或裂隙作为表现形式, 试验以此为指标, 反映 TdR 及 FUdR 的诱导效果。在 Olympus PH-2 光镜下仔细观察有良好中期分裂相的染色体标本, 记录脆性位点的形式、数量等。

收稿日期 1997-10-30

课题来源 国家自然科学基金资助项目, 0594

作者简介 雷初朝, 男, 1968 年生, 硕士, 在读博士

## 2 结果与分析

### 2.1 TdR对家猪脆性位点的诱导效果

用 2 公、2 母 4 头长白猪作为 TdR 的诱导材料,由 TdR 的诱导效果(表 1)可以看出,正常的对照组,在未添加任何诱导剂的情况下,有少量染色体脆性位点出现;加入诱导剂之后,脆性位点表达频率随 TdR 处理浓度的增加而不断上升;当 TdR 的处理浓度为  $60\sim 80\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,脆性位点表达频率达到高峰,为 65% 左右;继续增大处理浓度,脆性位点表达频率下降(表 1)。说明  $60\sim 80\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  为家猪脆性位点 TdR 处理的最适浓度。

表 1 TdR 诱导的家猪染色体脆性位点的频率

组别	处理浓度 / ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	观察细胞数	脆性位点频率 / %
I	0	100	8
II	20	51	28
III	40	50	45
IV	60	102	66
V	80	58	65
VI	100	50	30
VII	120	76	17

注:  $t = 4.07, P < 0.01$ 。

选用 TdR 浓度  $60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  处理 10 头长白猪(公、母各半),每头个体观察 50 个中期分裂相。结果(表 2)表明,不同个体之间出现染色体脆性位点的数目不同。1, 2, 3, 7, 10 号 5 头家猪在 15 号染色体上没有出现脆性位点,而另外 5 头个体在 15 号染色体上出现的脆性位点较多。此外,还有 5, 7 号家猪在 13 号染色体上没有出现脆性位点。其他个体在此位点出现的频率都比较高,8 号个体在 16 号染色体未出现脆性位点,其他个体在 16 号染色体上的脆性位点表达频率较高等。这说明脆性位点在家猪中的表达存在个体差异。从每个个体的脆性位点总数来看(表 2),雄性个体脆性位点数量比雌性个体要稍微多一些。用 TdR 诱导的家猪染色体脆性位点主要集中在 1q, 2q, 6q, 13q, 16q 染色体上。

表 2 用 TdR 诱导的家猪染色体脆性位点分布

染色体	家猪编号										总计
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1p	1	1	1	0	0	2	0	4	1	2	12
1q	5	4	5	6	4	5	8	7	6	7	57
2q	4	3	4	3	6	4	7	5	6	6	48
3q	1	1	0	0	2	1	0	2	2	0	9
4q	0	0	2	1	1	0	2	1	0	0	7
5q	0	0	3	2	0	1	2	2	1	3	14
6q	7	6	6	4	7	3	1	0	2	0	36
7q	2	3	1	0	2	0	4	4	0	3	19
13q	8	7	8	6	0	6	0	4	2	5	46
14q	0	0	1	0	0	0	2	1	2	1	7
15q	0	0	0	5	5	2	0	3	2	0	17
16q	6	6	5	5	4	4	3	0	5	5	43
总计	34	31	36	32	31	28	29	33	29	32	

注: 1-5 号家猪为公, 6-10 号家猪为母。

## 2.2 以 FUdR 诱导的家猪脆性位点的频率及分布

本试验选用的 FUdR 浓度为  $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  [3]。FUdR 诱导的家猪脆性位点表达见表 3。

表 3 用 FUdR 诱导的家猪染色体脆性位点分布

染色体	家猪编号										总计
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
1p	0	0	3	3	0	0	3	0	5	2	16
1q	27	17	8	11	11	8	17	12	12	7	130
2q	2	1	8	9	0	4	5	0	4	10	43
6p	4	0	0	1	0	0	6	0	0	0	11
6q	6	14	4	8	13	8	9	8	1	10	81
7q	5	3	2	0	4	3	0	0	0	2	19
8q	0	0	0	0	0	3	0	0	2	0	5
13q	23	15	11	11	17	6	15	21	17	11	147
14q	8	11	0	2	12	2	7	10	0	3	55
15q	0	0	29	12	0	14	3	15	7	5	85
16q	24	14	16	20	13	20	13	5	9	12	146
总计	99	75	71	77	70	67	78	71	57	62	
fr%	198	150	142	154	140	134	156	142	114	124	

注: 11~ 15号家猪为公, 16~ 20号家猪为母,  $t = 1.751, P > 0.05$ 。

从表 3 可以看出, FUdR 诱导长白猪的脆性位点平均表达率为 145.4%, 12, 15, 18 号个体在 2q 出现染色体脆性位点频率很低, 其他个体则较高; 13, 14, 16, 19, 20 号个体在 14 号染色体上出现脆性位点的频率很低; 11, 12, 15 号个体在 15 号染色体没出现脆性位点, 而其他个体在 14, 15 号染色体表达脆性位点的频率较高。这说明家猪染色体脆性位点的表达存在个体差异。从个体性别来看, 雌性个体表达染色体脆性位点总数比雄性少, 经用  $t$  检验, 家猪性别之间脆性位点表达差异不显著。FUdR 诱导的家猪脆性位点主要分布在 1q, 2q, 6q, 13q, 14q, 15q, 16q 染色体上。从表 2 和表 3 还可看出, 家猪染色体脆性位点多发生在较长的染色体上, 较短的染色体上脆性位点较少。对同一品种的家猪, 所用的诱导剂不同, 脆性位点的表达部位不完全相同, 脆性位点表达频率也有明显差异, 有些脆性位点为某一诱导剂所特有。如 TdR 可诱导家猪染色体 3q, 4q, 5q 的一些脆性位点, 而 FUdR 则在 6q, 8q 诱导出脆性位点。

## 3 讨 论

FUdR 的诱导效果 本试验用 FUdR 诱导长白猪的脆性位点, 平均表达率为 145.4%, 低于詹铁生 [3] 的研究结果 (22.4%)。原因可能是詹铁生用西北农大畜牧站的猪群为试验动物所致。FUdR 诱导家猪脆性位点, 性别差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 这与 Riggs [1] 的结果相反, 与 Yang [2] 的结论相同。目前还难以解释产生这种现象的原因, 可能是雌雄家猪染色体的稳定性稍有差异。FUdR 诱导的家猪脆性位点在 1q, 2q, 6q, 13q, 14q, 15q, 16q 染色体上是高发区, 这与王子淑等 [4] 用 FUdR+ 咖啡因诱导的长白猪脆性位点差异较大, 他们认为长白猪染色体脆性位点主要发生于 14 号染色体以前。通过对 FUdR 与 TdR 的脆性位点诱导率进行比较, 得出与 Yang [2]、詹铁生 [3]、王子淑 [4] 一致的结论, 即 FUdR 是一种比较有效的家猪脆性位点诱导剂。

常见型与罕见型脆性位点的分类 目前还没有统一的标准, 大多数学者同意用不同

的诱导剂诱导脆性位点的模式作为分类标准。依此标准,用 TdR 及 FUdR 诱导的家猪脆性位点属于罕见型脆性位点中的亚型叶酸敏感型。王子淑<sup>(4)</sup>利用 FUdR, BUdR 诱导家猪脆性位点时,区别常见型与罕见型脆性位点,是以脆性位点的表达频率高低来判断的,他认为,表达频率高的一些位点就是常见型脆性位点,频率很低的叫罕见型脆性位点。本文暂且把 TdR, FUdR 诱导的脆性位点叫 TdR 型脆性位点和 FUdR 型脆性位点。

**脆性位点的生物学意义** 虽然有关脆性位点的生物学意义还不十分清楚,但人们已了解到,脆性位点与人类疾病有密切的关系。脆性 X 综合征导致 X 连锁智力低下;脆性位点使癌染色体断裂,引起自发流产及体外受精失败。有学者认为它还与染色体进化有关,是哺乳动物染色体的普遍现象,具有保守性。Ronne<sup>(6)</sup>指出,脆性位点是哺乳动物染色体中很古老的结构,可能引起马的繁殖障碍。此外,带有脆性 X 染色体的日本黑牛、荷斯坦牛都有不同程度的繁殖障碍。脆性位点与家猪繁殖性能之间的关系还未见报道,尚待进一步研究。

### 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. *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. *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.见:中国遗传学会编.中国的遗传学研究(中国遗传学会第五次代表大会暨学术讨论会论文摘要汇编,1991-1994). 1995: 303
- 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. *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. *Animal Biotechnology Bulletin.* 1996, 5( Sup): 79-83
- 6 Ronne M. Putative fragile sites in the horse karyotype. *Hereditas.* 1992, 117: 127-136

## A Primary Study on Fragile Sites in Domestic Pig Chromosome

Lei Chuzhao<sup>1</sup> Wang Detang<sup>2</sup> Xin Xiaoyan<sup>2</sup> Yang Gongshe<sup>1</sup> Zhan Tiesheng<sup>1</sup>

(1 College of Animal Science and Veterinary Medicine, North western Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

(2 Department of Obstetrics and Gynecology, The Fourth Military Medical University, Xian, Shaanxi 710033)

**Abstract** By using the peripheral blood lymphocyte culture method and common staining technology in this experiment, a primary study on fragile sites in domestic pig chromosome is done with Thymidine (TdR) and Fluorodeoxyuridine (FUdR) as inducer. The result shows that a concentration of 60-80 mg of TdR L<sup>-1</sup> of medium is recommended as the optimum for fragile sites expression in domestic pig and the expression rate of fragile sites is about 65 percent. The TdR-sensitive fragile sites in domestic pig are identified on Chromosomes 1q, 2q, 6q, 13q and 16q, whereas the FUdR-sensitive fragile sites are identified on Chromosomes 1q, 2q, 6q, 13q, 14q, 15q and 16q. Individual differences may exist in the expression of fragile sites in domestic pigs. The classification and biological significance of fragile sites are also briefly discussed.

**Key words** domestic pig, chromosome, fragile site