

# 毛冠鹿种内异染色质变化与染色体多态

粘伟红<sup>①</sup> 庞宏<sup>①</sup> 张锡然<sup>①\*</sup> 曹祥荣<sup>①</sup> 刘伟<sup>①</sup> 王强<sup>②</sup>

(<sup>①</sup> 南京师范大学江苏省分子医学生物技术重点实验室 南京 210097; <sup>②</sup> 四川省成都动物园 成都 610081)

**摘要:** 采用原代和传代培养方法对 8 头毛冠鹿 (*Elaphodus cephalophus*) 的皮肤细胞进行了染色体研究, 发现了一种核型与以前所报道的几种核型不一致, 确定为一新核型。在该核型中, 染色体众数  $2n = 47$ , 2 条 X 染色体异型, 一条为端着丝粒, 另一条为近端着丝粒。C-带显示该核型中异染色质除了分布在 2 条 X 染色体长臂中之外, 在第一对大的端着丝粒染色体中的一条近着丝粒区出现一异染色质“柄”。结合 C-带及薄层扫描结果对毛冠鹿种内常染色体、性染色体中异染色质的含量和分布与染色体多态的关系进行了探讨。

**关键词:** 异染色质; 染色体多态; 核型; C-显带; 薄层扫描

中图分类号: Q343.2+4 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2006)06-132-04

## Variation of Heterochromatin and Chromosome Polymorphism in the Tufted Deer

NIAN Wei-Hong<sup>①</sup> PANG Hong<sup>①</sup> ZHANG Xi-Ran<sup>①</sup> CAO Xiang-Rong<sup>①</sup> LIU Wei<sup>①</sup> WANG Qiang<sup>②</sup>

(<sup>①</sup> The Jiangsu Key Laboratory of Molecular and Medical Biotechnology of Nanjing Normal University, Nanjing 210097; <sup>②</sup> Chengdu Zoo, Chengdu 610081, China)

**Abstract:** Chromosomal analysis of skin cells from 8 Tufted Deer (*Elaphodus cephalophus*) was conducted by using primary culture and subculture. A new karyotype, different from the previously reported karyotype, was found. There were 47 chromosomes in somatic cells including a pair of heteromorphic X chromosomes, one was telocentric and the other was subtelocentric. C-banding revealed that besides the two long arms of the X chromosomes the heterochromatin also displayed in the area near the centric region of one of the first telocentric chromosome looking like an “arm”. We also studied the relationship between the quantity and display of heterochromatin in the Tufted Deer’s autosomes and sex chromosomes and the chromosome polymorphism according to the results of C-banding and thin layer scanning.

**Key words:** Heterochromatin; Chromosome polymorphism; Karyotype; C-banding; Thin layer scanning

毛冠鹿属于鹿科麂亚科毛冠鹿属, 只有 1 个种 3 个亚种。主要分布在中国的东南及西南等省。自 20 世纪 80 年代开始就有关于其核型的报道<sup>[1~5]</sup>, 发现核型间存在染色体多态。2005 年本实验室曹祥荣等人从分子水平对性染色体进行了鉴定<sup>[6]</sup>。本文对成都动物园饲养的 8 头毛冠鹿的皮肤组织进行原代培养。经核型分析出现一种新核型。根据不同核型中异染色质的分布及含量特征分析了其与毛冠鹿种内染色体多态之间的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料 本文研究的 8 头毛冠鹿均来自成

基金项目 国家自然科学基金(No. 30370789), 江苏省教委自然科学基金(No. 02KJD180006);

\* 通讯作者, E-mail: zhangxiran@njnu.edu.cn;

第一作者介绍 粘伟红, 女, 硕士, 研究方向: 细胞遗传与分子遗传学, E-mail: inwh0927@yahoo.com.cn.

收稿日期: 2006-03-30, 修回日期: 2006-09-15

都动物园,1<sup>#</sup>、2<sup>#</sup>、3<sup>#</sup>和5<sup>#</sup>个体为亲代,7<sup>#</sup>、8<sup>#</sup>、9<sup>#</sup>和10<sup>#</sup>个体为子代。每个个体的性别、来源如表1所示。

表1 毛冠鹿不同个体的性别及来源

	1 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup>	5 <sup>#</sup>	7 <sup>#</sup>	8 <sup>#</sup>	9 <sup>#</sup>	10 <sup>#</sup>
性别	♀	♀	♀	♂	♀	♀	♂	♀
来源	四川	四川	浙江	湖南	1 <sup>#</sup> × 5 <sup>#</sup>	3 <sup>#</sup> × 5 <sup>#</sup>	2 <sup>#</sup> × 5 <sup>#</sup>	1 <sup>#</sup> × 5 <sup>#</sup>

**1.2 细胞培养** 取毛冠鹿大腿内侧一小块皮肤(2 mm × 2 mm),采用小组织块贴壁培养法进行原代培养,待细胞长满后,按常规方法进行传代培养。

**1.3 染色体制片** 当细胞传至 F<sub>4</sub> ~ F<sub>10</sub> 代时进行染色体分析,在细胞呈对数增长并达到合适密度时加入秋水仙素至终浓度为 0.4 μg/ml,5.5 h 后终止培养。胰酶消化法收集细胞,常规染色体制片。每个个体分析 100 个中期分裂相,确定其核型。

**1.4 C-带分析** 取片龄为 10 d 染色体片脱色后经 0.2 mol/L HCl、5% Ba(OH)<sub>2</sub>、2 × SSC 等 C-显带处理,3% Giemsa 染色,镜检分析。

**1.5 薄层扫描** 选择清晰、形态良好的 C-带图用 Shimadzu 扫描仪,采用单波扫描法进行薄层扫描,分析在特定的染色体中异染色质所占的比例。对 1 号及 X 两对同源染色体进行扫描,各统计 5 个以上的数据,取平均值分析结果。

## 2 结果

**2.1 无带核型显示** 8 头毛冠鹿核型中性染色体出现 4 种不同的类型,如表 2 所示。其中 7<sup>#</sup> 和 10<sup>#</sup> 2 个体(即 1<sup>#</sup> 和 5<sup>#</sup> 的子代)的核型相同,为一新核型(图 1、2),染色体众数 2n = 47。首次出现 2 条异型的 X 染色体,一条为端着丝粒,另一条为近端着丝粒,而且两条 1 号染色体长度上存在明显差异,与以前报道的核型不同。图 3 表明了新核型中两条异型 X 染色体的由来。本文 7<sup>#</sup>、10<sup>#</sup> 两头子代个体为雌性,如果子代为雄性,则为施立明等(1991 年)报道的核型<sup>[3]</sup>。

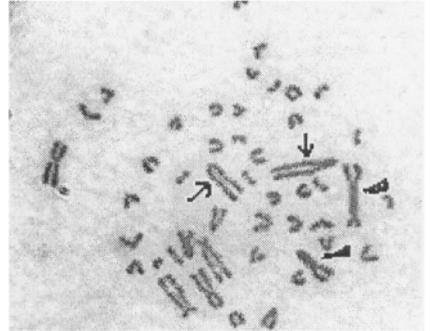


图 1 7<sup>#</sup> 中期相

↑ 示 1 号染色体 ▲ 示 X 染色体。

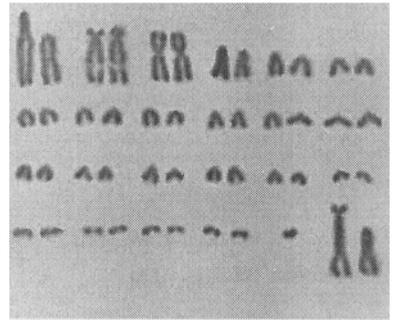


图 2 7<sup>#</sup> 组型

**2.2 C-带结果** 异染色质主要分布在 X 染色体长臂、Y 染色体基本全部、1 号染色体的近着丝粒区及 4 号染色体的近着丝粒区。特别要指出的是 7<sup>#</sup>、10<sup>#</sup> 个体其 1 号两条同源染色体异染色质存在明显差异,其中一条多出一异染色质“柄”(图 2、图 4、图 5C)。

**2.3 薄层扫描结果** 5 头毛冠鹿 C-带核型(分别属 3 种类型)的部分染色体薄层扫描结果显示:1<sup>#</sup> 个体的两条 1 号染色体中异染色质含量分别为 43.49% 和 35.88%(表 3,图 5A);3<sup>#</sup> 和 8<sup>#</sup> 个体的两条端着丝粒 X 染色体,其异染色质含量分别为 69.91% 和 62.92%(表 3,图 5B);对

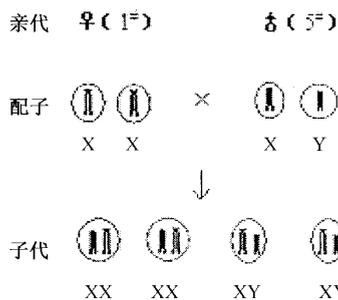


图3 7<sup>#</sup>、10<sup>#</sup> 两条 X 染色体为异型

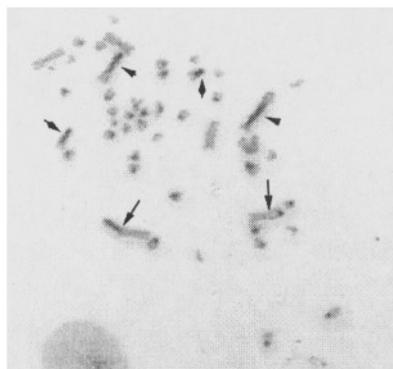


图4 7<sup>#</sup> C-带

↑示1号染色体 ▲示X染色体 ◆示4号染色体。

7<sup>#</sup> 和 10<sup>#</sup> 个体而言,一条端着丝粒 X 染色体其异染色质含量为 64.36% ,另一条近端着丝粒 X 染色体其异染色质含量为 71.72% ,分别与图 5B 中的两条端着丝粒染色体较短和较长的一条接近。除此,在不同个体中,其 4 号染色体、Y 染色体的异染色质也存在差异。从上述可见,不同核型间异染色质的含量是不尽相同的,这也是毛冠鹿染色体多态的另一特点。

表2 8头毛冠鹿性染色体类型

动物编号	性染色体类型	与下列作者报道的核型相同	发表时间(年份)
1 <sup>#</sup> (♀)	XX (XX)	王宗仁等 <sup>[2]</sup>	1984
2 <sup>#</sup> 3 <sup>#</sup> 8 <sup>#</sup> (♀)	XX (XX)	束峰珏,张锡然等 <sup>[4]</sup>	1998
5 <sup>#</sup> 9 <sup>#</sup> (♂)	XY (XY)	张锡然等 <sup>[1]</sup>	1983
7 <sup>#</sup> 10 <sup>#</sup> (♀)	XX (XX)	本文,新核型	

表3 毛冠鹿3种核型(A、B、C)不同个体部分染色体C-带扫描结果

动物编号	所扫描染色体及扫描的数量		异染色质占整条染色体比率(%)
	1号染色体	XX染色体	
1 <sup>#</sup> (A)	两条端着丝粒染色体 5+5		43.49 35.88
3 <sup>#</sup> 8 <sup>#</sup> (B)		两条端着丝粒染色体 5+5	69.91 92.92
7 <sup>#</sup> 10 <sup>#</sup> (C)		一条端着丝粒染色体 5	64.36
1 <sup>#</sup> 7 <sup>#</sup> 10 <sup>#</sup> (A、C)		一条近端着丝粒染色体 5	71.72

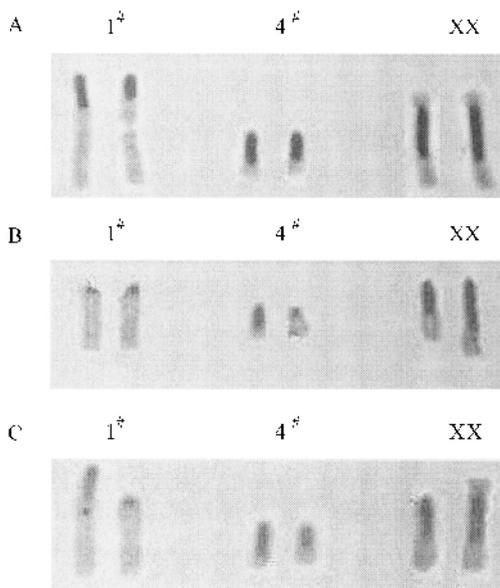


图5 毛冠鹿3种核型(A、B、C)不同个体部分染色体异染色质分布

A: 1<sup>#</sup> 个体(♀) 2n=46; B: 3<sup>#</sup>、8<sup>#</sup> 个体(♀), 2n=48; C: 7<sup>#</sup>、10<sup>#</sup> 个体(♀) 2n=47。

### 3 讨论

毛冠鹿是我国特有的二类保护动物,由于材料难得,有关其染色体研究的个体数量至今不足 30 头。本文对成都动物园的 8 头毛冠鹿染色体的研究无疑是很好的补充和验证。可喜的是其中 4 头是他们的子代,这为毛冠鹿种内各核型之间的遗传规律提供了难得的佐证。本次出现的新核型尽管染色体众数 2n = 47,但与张锡然等<sup>[1]</sup>报道的一头雌性 2n = 47 的不同。

本次两条 X 染色体为异型,从已发现的毛冠鹿 5 种核型看,它们之间是可遗传的。而 1983 年那头雌性毛冠鹿其性染色体为 XO 型,该个体从外观正常,但是否可育因至今仅发现 1 头,难以定论。而 XO 型个体在棕色田鼠中是可育的<sup>[7]</sup>。

在毛冠鹿中异染色质的分布和含量存在差异从而使染色体产生多态现象。体现在以下两方面:一是性染色体上由于异染色质含量不同,使得染色体大小产生明显差别。例如,图 5B 3<sup>#</sup> 及 8<sup>#</sup> 个体中两条 X 染色体中异染色质的含量不同,使得其大小产生明显差别;Y 染色体在不同个体间大小也存在明显差异<sup>[5]</sup>。二是常染色体上由于异染色质不均匀分布使得同源染色体产生差别。例如,图 5A 在 1<sup>#</sup> 个体中两条 1 号染色体异染色质含量存在差异,分别为 43.49% 和 35.88%。而在 7<sup>#</sup>、10<sup>#</sup> 个体中(图 5C)只有一条 1 号染色体上有非常明显的异染色质分布。另外 4 号染色体中异染色质的分布在不同个体中也存在差异。毛冠鹿不同核型间异染色质分布不尽相同,这也是毛冠鹿染色体多态的又一特点,而有关罗伯逊易位导致其核型多态将另文报道。随着细胞遗传学技术的发展,已在许多动物中报道过染色体多态现象。Wang 等人也曾报道过在白腹巨鼠中由于异染色质变化引起染色体多态的现象<sup>[8]</sup>。但像毛冠鹿种内由于异染色质的变化而使同源染色体产生差别等现象在其他动物中还未见报道。我们推测在毛冠鹿中存在异染色质易位,而且这种易位可能存在于常染色体之间、常染色体与性

染色体或性染色体之间。但这种现象并不影响毛冠鹿的表形特征。这方面的问题还有待于进一步研究。

从目前所研究过的毛冠鹿个体来看,在同一地区的个体可以存在不同的核型,同时不同的地区也发现过相同核型的个体。因此,毛冠鹿核型的多态现象与地理分布或亚种间没有直接关系。

## 参 考 文 献

- [1] 张锡然,王建华,陈玉泽.毛冠鹿(*Elaphodus cephalophus*)体细胞的染色体研究.动物学研究,1983,4(1):89~93.
- [2] 王宗仁,全国强.毛冠鹿染色体组型.动物学研究,1984,5(1):78.
- [3] Shi L, Yang F, Kumamoto A. The chromosomes of tufted deer (*Elaphodus cephalophus*). *Cytogenet Cell Genet*, 1991, 56:189~192.
- [4] 束峰珏,张锡然,聂刘旺等.毛冠鹿(*Elaphodus cephalophus*)一种新核型及 C 带分析.南京师大学报(自然科学版),1998,21(4):30.
- [5] 孔亚慧,张锡然,曹祥荣等.新发现的毛冠鹿的一核型与性染色体探讨.南京师大学报(自然科学版),2002,4(25):77~80.
- [6] Cao X, Jiang H, Zhang X. Polymorphic karyotypes and sex chromosomes in the tufted deer (*Elaphodus cephalophus*): cytogenetic studies and analyses of sex chromosome-linked genes. *Cytogenet Genome Res* 2005, 109:512~518.
- [7] 朱必才,王红艳,屈艾.棕色田鼠 XO 雌体育性研究.动物学报,1998,44(2):209~212.
- [8] Wang J X, Zhao X F, Koh H S, et al. Chromosomal polymorphisms due to heterochromatin growth and pericentric inversions in white-bellied rat, *Niviventer confucianus*, from China. *Hereditas* 2003, 138:59~64.