

研究简报

二价染色体上黄鳝 SRY 盒基因的高分辨区域定位*

A regional localization of SRY box gene on bivalent
chromosomes of *Monopterus alba*

李奎 余其兴 赵则春 周荣家

(武汉大学生命科学学院, 430072)

Li Kui Yu Qixing Zhao Zechun Zhou Rongjia
(College of Life Science, Wuhan University, 430072)

关键词 黄鳝, SRY 盒基因, 基因定位, 二价染色体

Key words rice field eel, SRY box, gene mapping, bivalent chromosome

黄鳝是合鳃目、合鳃科、黄鳝亚科的唯一代表种, 主要分布于东印度、东南亚、日本和中国, 具有较重要的经济价值。因其是雌雄同体, 具有先雌后雄的天然性逆转生理规律, 对于其染色体组中是否存在异形性染色体, 历来就有截然相反的 2 种观点, 所以, 黄鳝的性别决定机制一直是学术界关注的热点。

SRY (sex determining region Y) 基因被认为是人和哺乳动物性别决定的关键基因。最近的研究表明, 在进化程度明显不同的其它动物种中, 也广泛存在 SRY 的同源基因, 这些拟 SRY 基因现已被命名为 SRY 盒 (SRY box) 基因或 SOX 基因。与人类和哺乳动物的同类研究相比, 鱼类基因的染色体定位研究还十分落后。这主要是因为鱼类有丝分裂染色体的多重带显带比较困难, 导致对其染色体的识别判定及其基因的区域定位皆成了国际公认的技术难题。有鉴于此, 我们率先在鱼类减数分裂二价染色体上开展染色体多重带和基因定位研究。本文报道了黄鳝的 SRY 同源盒基因的定位研究结果。

1 材料与方法

1.1 实验材料

雄性黄鳝 10 余尾, 雌性黄鳝数尾, 均购于武汉市集贸市场。探针 DNA, 含人 SRY 基因保守区在内 600 bp DNA 片段。

1.2 实验药品

地高辛试剂盒 (Boehringer Mannheim 公司产品) 购自北京中联公司。

1.3 实验方法

黄鳝二价染色体的制备基本上按余其兴等^[1]的方法进行。用地高辛标记染色体原位杂交技术开展基因定位研究, 具体方法参见文献^[2]。杂交后显带方法按李奎等^[3]的方法进行。选择染色体形态好, 带纹清晰, 其上具有明显信号的分裂相进行显微摄影, 对染色体上的杂交信号计数, 进行统计学检验和带型比较。并选取 10 个分裂相测算二价染色体的相对长度和杂交信号距着丝粒的相对距离 (相对距离 = 杂交信

收稿日期: 1996-10-23

* 国家自然科学基金和博士点科研基金资助课题部分内容

号距着丝粒的距离/杂交信号所在二价体全长 $\times 100\%$)。

2 结果

对杂交信号的统计分析见表 1。

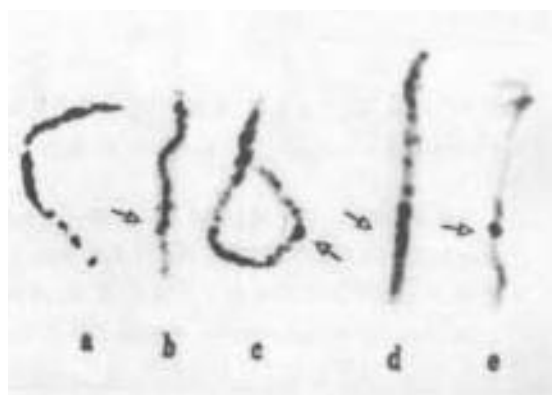
表 1 黄鳍 SRY 盒基因定位研究结果

Table 1 The statistical results of SRY box gene mapping of rice field eel

统计分析分裂相	杂交信号数	1 号染色体上杂交信号数	其它染色体上信号数
statistical spreads	hybridization signals	hybridization signals on bivalents No. 1	hybridization signals on other bivalents
82	97	66	31



图 1 黄鳍二价染色体上 SRY 盒基因定位(箭头示杂交信号)
Fig. 1 Localization of SRY box gene on bivalent chromosomes of rice field eel (arrow showing the hybridization signal)



a 为 G 带型, b~e 为原位杂交后 G 带型
a: the G-banding pattern, b~e the banding patterns after in situ hybridization

图 2 黄鳍 1 号二价体带型特征比较(箭头示杂交信号位于 $1q^{44} \sim q^{57}$ 区间)
Fig. 2 The comparison of G-banding patterns of bivalent No. 1

经统计学检验, 1 号二价体上的信号分布具有极显著的特异性($P < 0.001$)。通过测算确定杂交信号距着丝粒的相对距离为 70.32%。通过带型、染色体相对长度, 结合杂交信号距着丝粒的相对距离分析, 确定黄鳍 SRY 盒基因位于 $1q^{44} \sim q^{57}$ 。1 号二价体上 66 个杂交信号中, 64 个(97%)位于此区间。图 1 示 $1q^{44} \sim q^{57}$ 具有杂交信号的分裂相。图 2 则将 1 号二价体杂交后带型特征与余其兴等^[1]报道的同号二价体带型特征进行了比较, 可见相互之间较为一致。图 3 为一号二价体上杂交信号分布示意图。

3 讨论

SRY 基因是位于人和哺乳动物的 Y 染色体上, 为雄性所特有的性别决定基因。而已有证据表明, 有些鱼类中雌、雄皆有 SRY 同源基因, 没有性别特异性。与之相对应的特点是已进行过核型分析的鱼类中大多未发现异形性染色体, 鱼类性别决定的细胞及分子遗传学基础尚未明了。因此, 开展鱼类 SRY 同源基因的定位研究很有必要。

黄鳍染色体组中是否存在异形性染色体, 迄今仍是一个未解之谜。刘凌云^[4,5]等人皆报道黄鳍中存在有异形性染色体, 并将其染色体组中最大的一条暂定为 X 染色体, 另一较小的染色体暂定为 Y 染色体。而

马昆等^[6]、任修海等^[7]、余其兴等^[1]通过对黄鳝的有丝分裂核型、联会复合体核型、限制性内切酶多重带、精巢和卵巢粗线期二价染色体核型和多重带的详细分析,均未发现其有异形性染色体存在的迹象。刘健康^[8]早已发现黄鳝这个物种具有天然性逆转的生理特性,并得到学术界的公认。如果黄鳝中确实存在异形性染色体,究竟是因为黄鳝天然种群中原本就存在有同型(XX)和异型(XY) 2 种性染色体组成类型个体,还是同一个体中,其染色体可由同形转变为异形呢? X 染色体又是如何转变为较小的 Y 染色体? 这也是一个未知之谜。

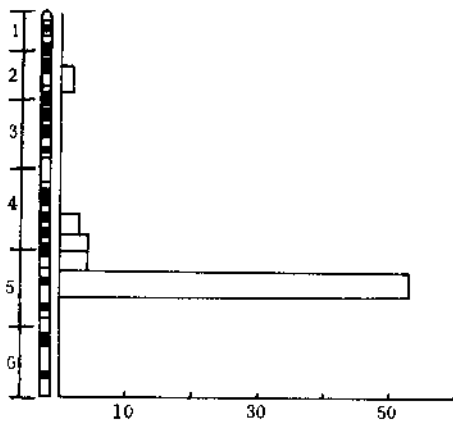


图 3 1 号二价体上杂交信号分布

Fig.3 Hybridization signal distribution on bivalents No.1

鱼类中 SRY 同源基因是否与性别分化有关,尚未定论。我们研究表明黄鳝具有 SRY 同源基因,定位于初级精母细胞的 1 号二价体上。1 号二价体显著长于其余二价体,极易识别。余其兴等已确认 1 号二价体高分辨 G 带特征与刘凌云暂定为 X 染色体的 G 带特征相符,由于粗线期每条二价体是由同源染色体两两紧密配对所构成。因此判断,1 号二价染色体可能即是上述部分学者所认定的黄鳝性染色体。

需着重指出的是,我们近年来的研究表明,在黄鳝二价体上开展基因定位研究具有取材和制片容易,能提高基因区域定位的准确性和分辨率,便于显示多重带等独特优点,可以摆脱鱼类有丝分裂染色体定位上的种种不利因素,为改变鱼类基因定位研究的落后局面开辟新的途径。

参 考 文 献

- 1 余其兴,樊连春,崔建勋,等.黄鳝二价染色体高分辨 G 带制备及模式图构建.中国科学(B 辑),1993,23(9):947~954
- 2 李 奎,余其兴,毛 勇等.地高辛标记原位杂交技术定位黄鳝 rRNA 基因于二价染色体 3q 12-q24 和 7q14-q26.遗传学报,1995,22(2):97~102
- 3 李 奎,蒋建桥,董素红,等.用染色体原位杂交技术定位猪 HCG 同类物于 14q11-q16.畜牧兽医学报,1993,24(4):301~306
- 4 刘凌云.黄鳝染色体 G-带带型的研究.遗传学报,1983,10(3):203~234
- 5 刘凌云.BrdU 处理的鱼类染色体高分辨 G-带带型分析.遗传学报,1988,15(2):117~121
- 6 马 昆,施立明.黄鳝减数分裂和联会复合体组型分析.动物学研究,1987,8(2):159~163
- 7 任修海,余其兴.鱼类基因组结构研究 1.染色体的限制性内切酶显带.遗传学报,1991,18(1):17~22
- 8 刘健康,顾国彦.鳝鱼性逆转时生殖腺组织的改变.中国水生生物学汇报,1951,2(1-2):85~109