

小鼠联会复合体畸变类型的电镜观察

姜杰 王彬 王亚梅¹

(白求恩医科大学放射医学研究所, 长春 130021)

¹(东北师范大学生物系, 长春 130024)

摘要 联会复合体和染色体一样, 可以显示生殖细胞减数分裂过程中的诱变效应。采用雄性昆明种小鼠为实验材料, 经 4 Gy X 射线照射, 于照后不同时间处死小鼠, 制备联会复合体标本, 并用电镜观察联会复合体畸变。除观察到常规染色体方法所见到的断裂、易位等畸变外, 还观察到一些和联会有关的畸变类型, 如银染桥、自身回折配对、联会紊乱, 并探讨其与染色体畸变的关系, 为今后研究生殖细胞遗传物质损伤提供一个新的方法。

关键词 电离辐射, 联会复合体, 畸变, 染色体畸变

联会复合体(Synaptonemal complex, 简称 SC)是减数分裂前期染色体配对时同源染色体之间所形成的一种蛋白质结构。它的形态及构象代表着—对同源染色体。通常联会复合体是由两条侧生组分组成的, 每条侧生组分代表一条染色体。对突变种小鼠的研究早已证明前期联会复合体的形态和中期染色体异常(倒位和易位)的出现高度相关^[1-4], 因此可以通过前期联会复合体的异常状况来推断中期染色体损伤情况。Cawood 和 Backer 等人^[5,6]研究表明, 用联会复合体方法检测畸变, 其灵敏度要明显高于常规染色体方法。但迄今为止对联会复合体畸变尚无详细描述。因此, 有必要对联会复合体畸变类型进行分类整理, 并和染色体畸变加以对比分析, 为今后应用联会复合体方法进行畸变检测提供参考。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

雄性昆明种成熟小白鼠, 体重 25~30 g。

1.2 照射

小鼠全身给予 4 Gy X 射线均匀照射, 剂量率为 0.44 Gy/min。于照后不同时间(4 d、60 d)取材, 分别相当于 DNA 合成前和 DNA 合成后受照。

1.3 联会复合体标本制备

杀死雄鼠后取出其睾丸, 去除被膜, 在 2% 枸橼酸钠溶液中剪碎并制备细胞悬液。离心(1500r/min) 7 min, 0.5% KCl 溶液低渗 25~30 min, 然后将悬浮液直接滴在载玻片上, 涂平, 空气干燥, 再用 4% 的多聚甲醛(pH 8~9)固定 10 min, 用蒸馏水冲洗, 空气干燥, 硝酸银染色(50% AgNO₃ + 2% 明胶, 体积比 2:1 混合)。光镜下观察选择联会复合体分散良好的细胞相, 记录坐标。

收稿日期: 初稿 1994-11-02, 修改稿 1995-4-18

将已记录坐标的载片插入 0.5% 的聚乙烯醇缩甲醛氯仿溶液 (0.5 g 聚乙烯醇缩甲醛 + 100 ml 氯仿) 内, 浸湿后取出, 待溶剂蒸发后, 载玻片上即结上一层薄膜。在光镜下按所记录的坐标找到需要的细胞相, 放置 50 目铜网, 用针尖沿铜网边缘将膜划破并滴加 0.1 mol/L 氢氟酸, 待膜漂起后, 将载片慢慢浸到蒸馏水中, 使带有铜网的膜漂浮在水面上, 用称量纸捞起铜网, 自然干燥, 用电镜观察。

2 结 果

2.1 正常联会复合体组型

图 1(a) 显示小鼠正常粗线期联会复合体组型。19 条完全联会的联会复合体代表着 19 对同源的常染色体, 箭头所指为性染色体 XY 的联会复合体, 不完全联会表明 XY 染色体部分同源, 没

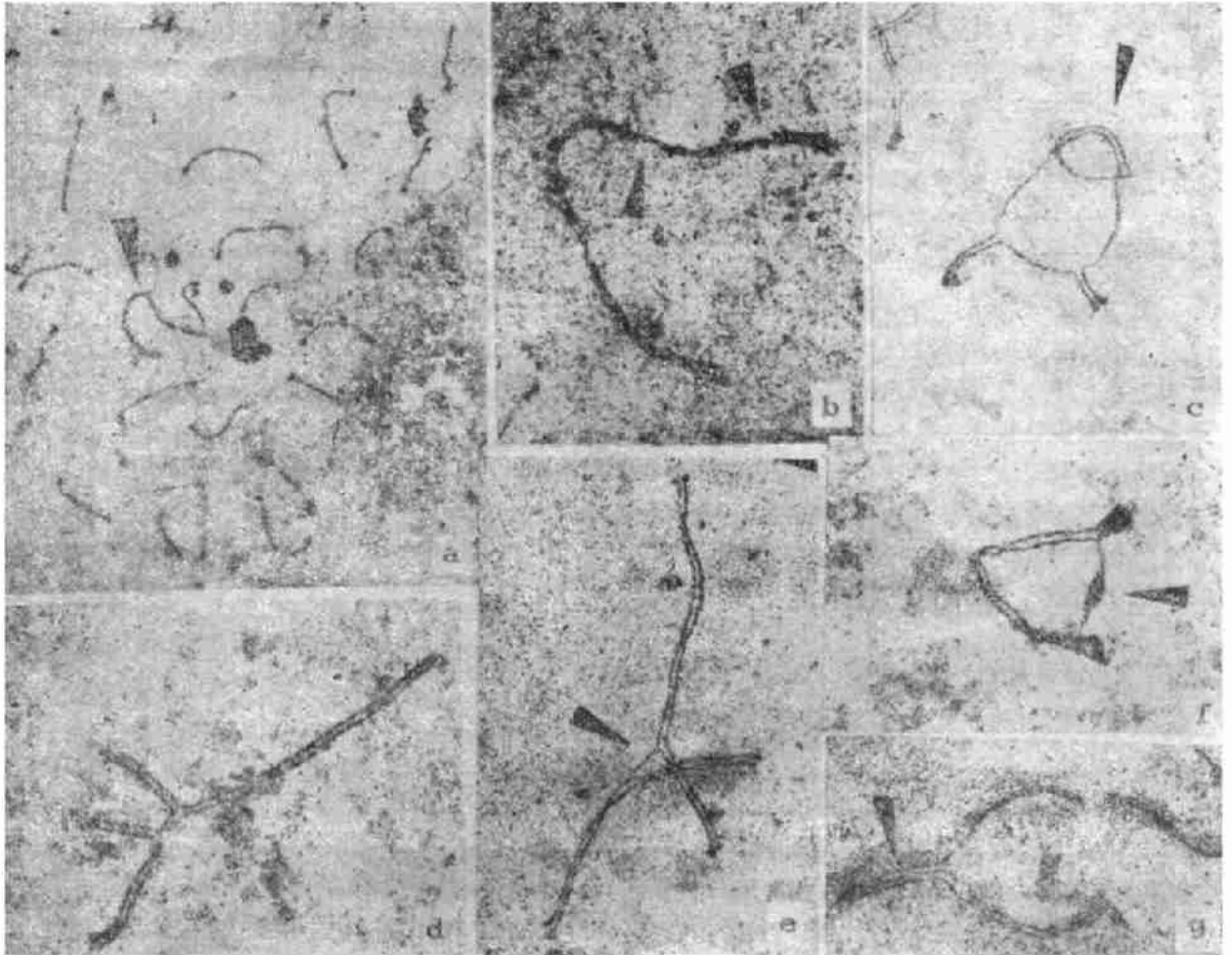


Fig 1. Damage to synaptonemal complexes in male mice after exposure to 4 Gy X-rays (a) Normal pachytene cell showing 19 autosomal synaptonemal complexes and the XY (at arrow) synaptonemal complex (mag, 1500 ×) (b) Lateral element breaks (mag, 5760 ×) (c) Deletion ring (mag, 5760 ×) (d) Multivalent (mag, 6000 ×) (e) Bridge between two autosomal synaptonemal complexes (mag, 6000 ×) (f) Bridge within an autosomal synaptonemal complex (mag, 6000 ×) (g) Multi-axial configuration (mag, 5800 ×)

有配对的区域为非同源部分。性染色体联会复合体发育要早于常染色体,通常根据性染色体的联会复合体发育状况判断减数分裂前期进程。

2.2 联会复合体畸变

联会复合体为染色体配对时的一种非永久性结构。它只存在于减数分裂前期的细线期——双线期,和同源染色体配对、遗传物质交换、减数分裂正常进行有着密切关系。通常选择粗线期观察联会复合体,根据实验观察联会复合体畸变有以下几种。

2.2.1 侧生组分断裂 每条联会复合体是由两条侧生组分组成,每条侧生组分代表一条染色体,故侧生组分断裂表明同源染色体中的一条染色体发生断裂。但此期由于同源配对,其断端不游离,分别相当于染色体畸变中的末端缺失和无着丝粒片段,见图1(b)。

2.2.2 缺失或重复环 配对的两条侧生组分不等长,中间形成一突出环,见图1(c)。它的形成是由于染色体发生中间缺失或插入。图1(c)为一缺失环,图中可见缺失部分自己首尾相接形成一独立环,并和未缺失部分配对在一起。

2.2.3 多价体 两条或两条以上联会复合体互有同源部分,交织配对形成的复杂结构为多价体。它是由于四条或四条以上染色体之间互有同源部分配对而形成的。多价体的形成有多种可能,由于染色体发生相互易位而形成的多价体;由于染色体之间发生罗伯逊易位而形成的多价体;由于染色单体互换而形成的多价体;由于双着丝粒(或多着丝粒)染色体而导致的多价体。其中最常见的是四价体,见图1(d)。

2.2.4 倒位 一条侧生组分交叉颠倒和另一条侧生组分配对形成倒位联会复合体。它的形成是由于染色体发生倒位畸变所致。常规染色体方法无法观察到此种畸变,而联会复合体方法却可清楚看到倒位环。

2.2.5 银染桥 (silver-staining bridge) 在两个不同的联会复合体之间及同一联会复合体的不同部位形成的一银染细丝,它联系着两个不同的侧生组分,见图1(e)、(f)。目前它还不能和已知的染色体畸变相对应。

2.2.6 联会紊乱(或称为不联会) 联会复合体两侧生组分纵长不配对,即不联会。正常对照组无此现象,表明辐射可致联会紊乱。其后果是同源染色体不能正常配对,因此不能完成减数分裂。

2.2.7 自身回折配对 侧生组分回折,自身配对,它发生在同一侧生组分的不同部位,为一种非正常配对现象。当细胞受到电离辐射或环境诱变剂的作用时,能破坏其某种调控机制,而形成自身回折配对,这种现象多见于X染色体。

2.2.8 多轴结构 三个或三个以上侧生组分配对形成的多轴结构。由于辐射破坏细胞内调节配对的某种机制,导致多个不同源染色体(或不同源部分)之间的配对,见图1(g)。

3 讨 论

电离辐射不仅可导致染色体断裂,形成各种畸变,而且还能影响某些蛋白质的合成,从而影响细胞内的正常联会。实验中观察到的多轴结构、自身回折配对均属非正常联会,而联会紊乱为一种不配对现象。尽管染色体外形没有变化,但这些异常严重干扰了减数分裂的正常进行。所以,这些畸变的观察对评价辐射潜在的遗传危害具有重要意义。

Backer 等人^[6]曾观察到一种新型的联会复合体畸变——银染桥。实验中作者也观察到这种异常现象,同时还发现这种桥的出现频率和照射时期有关。即DNA合成期前受照,出现频率极

低(0.48%), 而 DNA 合成期后照射出现频率较高(16.07%)。根据每个侧生组分代表一条染色体, 从银染桥的电镜照片看, 其宽度大致相当于半个侧生组分。因此, 推测银染桥可能为一种染色单体互换畸变, 但桥能否保持到中期并演变成中期 I 可见的多价体, 还有待于进一步研究。

从实验结果和文献[6]的显示, 和中期 I 染色体畸变相比, 联会复合体呈现出更多种异常形态, 如银染桥、联会紊乱、自身回折配对及多轴结构。这些畸变都是常规染色体方法无法显示的。此外, 由于联会复合体方法是光镜技术和电镜技术相结合, 畸变判断准确明了, 不易错判或受人为因素影响。因此, 为今后研究辐射诱变效应提供了一个有效的手段。

参 考 文 献

- 1 姜杰, 蔡露. 国外医学, 放射医学核医学分册, 1992, 16(4): 149
- 2 Davisson M T, Poorman P A, Roderick T H et al. Cytogenetic Cell Genet, 1981, 30: 70
- 3 Poorman P A, Moses M J, Davisson M T et al. Chromosome, 1981, 83: 419
- 4 Cawood A H, Breckon G. Chromosome, 1989, 98: 301
- 5 Cawood A H, Breckon G. Mutat. Res., 1983, 122: 149
- 6 Backer L G, Sontag M R, Allen J W. Radiat. Res., 1991, 125: 187

OBSERVATION OF SYNAPTONEMAL COMPLEX ABERRATIONS IN MALE MICE BY ELECTRON MICROSCOPY

Jiang Jic Wang Bin Wang Yamei¹

(Institute of Radiation Medicine, Norman Bethune University of Medical Sciences,
Changchun 130021)

¹(Department of Biology, Northeast Normal University, Changchun 130024)

ABSTRACT Synaptonemal complexes revealed mutagen-induced effects in germ cell meiotic chromosomes. Male mice were irradiated by 4 Gy X-rays and spermatocytes were harvested at different time after exposure. Various form of synaptonemal complex aberrations were observed, such as breaks, rings, rearrangement which were consistent with those aberrations observed in metaphase I chromosome by conventional cytogenetic analysis. Some novel forms of synaptonemal complex aberrations were observed. The relationship between synaptonemal complex aberration and chromosome aberration was discussed.

KEYWORDS Ionizing radiation, Synaptonemal complex, Chromosome, Aberration