

长期冻存对毛冠鹿(*Elaphodus cephalophus*) 肺细胞株的细胞遗传学效应

孔亚慧 张锡然 曹祥荣 薛建丽

(南京师范大学生命科学学院 , 南京 210097)

[摘要] 对液氮冻存 19 年的雄性毛冠鹿的胚肺细胞株进行复苏培养并对其核型进行观察 , 结果发现 F21 代时细胞株的核型已发生了变化 , 出现了一对大的末端着丝粒染色体 , C 带显示这一对染色体异染色质丰富 , 与已存在的相关染色体同源 , 这一核型不同于已报道的核型 , 是一种新的核型 .

[关键词] 冻存 ; 毛冠鹿 ; 细胞株 ; 细胞遗传学效应

[中图分类号] Q959.843.03 ; [文献标识码] A ; [文章编号] 1001-4616(2001)01-0092-03

0 引言

着丝粒融合或断裂而形成的染色体多态现象 , 在鹿科及啮齿类动物中已被认为是一种最常见的核型进化方式 . 麂亚科的毛冠鹿核型也存在多态 . 关于毛冠鹿的核型与带型张锡然 (1983、1984)^[1,2]、王宗仁 (1984)^[3]、束峰珏 (1998)^[4]已分别作了报道 , 迄今毛冠鹿已存在 4 种核型 . 束峰珏等 (1999)首次提出毛冠鹿存在 B 染色体 , 并认为毛冠鹿核型多态实质上是由于 B 染色体多态^[5] . 但这种现象是如何产生的 , 是自身遗传因素还是外部原因引起的 , 尚不清楚 . 本文对长期冻存的毛冠鹿细胞株复苏培养并对其核型进行观察 , 发现一种新核型 , 现报道如下 .

1 材料与方法

1.1 细胞来源

- (1) 雄性毛冠鹿肺细胞株 KIZ—81A , 引自昆明动物所细胞库 , 复苏培养时为第 18 代 .
- (2) 人胚肺细胞株 KMB—13 , 引自昆明医学生物所 , 复苏培养时为第 17 代 .

1.2 培养液

- (1) 毛冠鹿胚肺细胞株 : 采用 GIBC199 (85%) 加胎牛血清 (15%) 、双抗 (1%) 、谷氨酰胺 (1%) , pH 为 7.0 左右 .
- (2) 人胚肺细胞株 : 采用 RPMI1640 (80%) 加新生牛血清 (20%) 、双抗 (1%) , pH 为 7.0 左右 .

收稿日期 2000-07-11

基金项目 : 国家自然科学基金资助项目 (39970388)

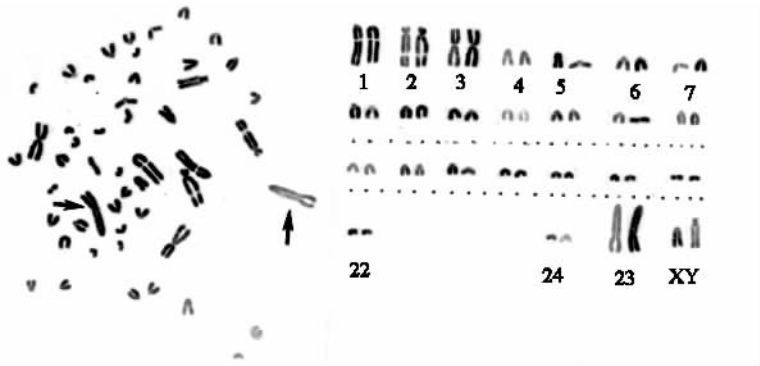
作者简介 : 孔亚慧 , 1977 — , 女 , 南京师范大学生命科学学院硕士研究生 , 主要从事细胞及分子遗传学的学习与研究 .

1.3 染色体标本制备

对 F21 代与 F24 代毛冠鹿细胞及 F18 代人细胞呈对数生长时分别进行染色体制片,在终止培养前 5 h 加秋水仙素至终浓度为 0.09 $\mu\text{g/mL}$ 0.25%胰酶消化收集细胞,空气干燥法制片,10% Giemsa 染色 30 min,选择染色体分散良好的中期分裂相进行观察统计,并对毛冠鹿细胞进行显微照相。

2 结果

对毛冠鹿 F21 代 86 个中期分裂相进行观察,发现有 22.09%的核型发生变异,出现 1 对大的末端着丝粒染色体。对毛冠鹿 F24 代 81 个中期分裂相进行观察,发现变异比率明显提高。染色体结构变异率达 75.31%,数目增加的核型达 74.07%。而对 F18 代人胚肺细胞 245 个中期分裂相观察,并未发现核型变化。(见图 1,图 2,表 1。)



(箭头示 23 号染色体为 1 对大的末端着丝粒染色体)

图 1 长期冻存的毛冠鹿细胞株出现的一种新核型 $2n=50$ (♂)

表 1 染色体观察结果

细胞株	代数	观察细胞数	二倍体数目/ %			多倍体/ 结构变异/ %	
			$2n=48$	$44\leq 2n<48$	$48<2n\leq 52$	%	%
KIZ—81A	F21	86	41.86	25.58	22.09	10.47	22.09
	F24	81	16.04	2.47	74.07	7.41	75.31
KMB—13	F18	245	$2n=46$	$41\leq 2n<46$	$46<2n\leq 50$	1.63	0
			79.18	17.55	1.63		



(箭头示 23 号染色体为 1 条大的末端着丝粒染色体)

图 2 毛冠鹿细胞株的原代核型 $2n=48$ (♂)

3 讨论

本次研究使用的毛冠鹿胚肺细胞株,其原有正常核型为 $2n=48=38T+2ST+2M+XY$,张锡然曾对冻存 132 d 的此细胞株进行复苏培养,发现从 F30 代起,染色体数目开始增加,到 F50 代时 $2n=48$ 占 12.5%,且结构出现异常,除了第 1 对末端着丝粒染色体出现变异(F54 代时这种变异染色体达 31%)外,又出现 1 条最大的等臂染色体,C 带证实该染色体由 2 个染色体发生着丝粒融合而成^[2]。而经长期冻存后的毛冠鹿肺细胞株在 F21 代已出现染色体众数增

加及结构变异现象,变异比率高达 22.09% ,到 F24 代达 74.07% .值得提出的是,长期冻存出现的结构变异是增加了 1 条最大的末端着丝粒染色体,即原细胞株中仅为 1 条,而本实验出现 1 对.资料显示短期冻存的人胚肺细胞株染色体组型的稳定性没有改变^[6],将长期冻存的人胚肺细胞株复苏培养结果也没有出现核型变异.张玫瑰等对恒河猴(*Macaca mulatta*)肾细胞冻存复苏培养,证实冻存 58 周以内的猴肾组织细胞,仍保持着原有的遗传学特性^[7].因此认为毛冠鹿细胞株属于不稳定的细胞株.由于其核型变异主要发生在 B 染色体上,可进一步说明 B 染色体具有多态性及传递过程中的不稳定性,这种变异机制及变异染色体的性质还有待于进一步研究.

[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[J].动物学研究,1983,2(1): 89—93.
- [2] 张锡然,王建华,陈玉泽.毛冠鹿(*Elaphodus cephalophus*)肺细胞株的建立及其生物学特性研究[J].动物学研究,1984,3(1): 71—76.
- [3] 王宗仁,全国强.毛冠鹿染色体组型[J].动物学研究,1984,3(1): 78.
- [4] 束峰珏,张锡然.毛冠鹿(*Elaphodus cephalophus*)一种新核型及 C 带分析[J].南京师大学报(自然科学版),1998,21(4): 80.
- [5] 束峰珏,张锡然,曹祥荣,等.毛冠鹿 B 染色体多态及遗传机制探讨[J].遗传,1999,21(6): 23—26.
- [6] 昆明医学生物研究所防治室代用品研究组.人二倍体细胞株(KMB—13)的建立及其生物学性质的初步观察[J].遗传学报,1974,1(2): 147—155.
- [7] 张玫瑰,代永祥,董德祥.恒河猴(*Macaca mulatta*)肾细胞冻存复苏培养及其生物学特性的研究[J].动物学研究,1983,2(1): 95—101.

The Cytogenetic Effect of Long Frozen Preservation on Lung Cell Strain of *Elaphodus cephalophus*

Kong Yahui, Zhang Xiran, Cao Xiangrong, Xue Jianli

(College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, PRC)

Abstract: A lung cell strain of a male embryo of *Elaphodus cephalophus* was resuscitated after being preserved in liquid nitrogen for about 19 years. Cytogenetics analysis showed that a new karyotype had been found at the 21st generation of cell strain. This new karyotype had more 48 chromosomes and a pair of big telocentric chromosomes compared to only single in the original karyotype of 48 chromosomes. The frequency of cells with such a pair of chromosomes greatly increased as the growth of cell. The results show the unstability of the cell strain of *Elaphodus cephalophus*.

Key words: frozen preservation; *Elaphodus cephalophus*; cell strain; cytogenetic effect

[责任编辑:丁蓉]