

# 联会复合体技术及其在辐射细胞遗传学中的应用

白求恩医科大学放射医学研究所 姜 杰 蔡 露综述 金玉珂审

**摘 要:** 联会复合体是减数分裂前期同源染色体之间形成的一种蛋白质结构。联会复合体分析是检测染色体畸变的一种新的灵敏方法。本文对联会复合体结构、化学组成及特性作一综述,重点介绍联会复合体技术在辐射细胞遗传学中的应用。

研究电离辐射对哺乳动物生殖细胞染色体损伤常用的方法有显性致死、可遗传性易位及细胞遗传学方法。其中最常用的是观察初级精母细胞终变期—中期(D-MI)的染色体改变,但D-MI期染色体高度浓缩,微小畸变常易遗漏,因此要精细地鉴别分析就比较困难。而联会复合体(synaptonemal complex, SC)技术是一种新的、有效的鉴别手段。此方法在辐射细胞遗传学研究中的应用给我们提供了一些新的信息和启示,也是当代细胞遗传学研究的前沿领域。

## 一、SC的一般生物学特性

### 1. SC的亚显微结构和化学组成

联会复合体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复合结构。这种结构最初由Moses和Fawaett(1956年)分别在蜥蜴、家鸽、猫及人的精母细胞的电镜超薄切片中观察到的,目前几乎所有观察过的真核生物都有这种结构。一般说,在电子显微镜下,SC是由三部分组成的,即两个侧生组分和一个中央组分<sup>[1]</sup>。对一个特定物种来说,SC的侧生组分及中央组分的宽度、结构相对恒定,但不同物种之间有差异。

无论侧生组分结构如何,其化学组成基本上是一致的,主要为蛋白质。许多作者证明,侧生组分的蛋白为组蛋白,而中央组分的成份为非组蛋白<sup>[1-2]</sup>。

SC是同源染色体联会、交换的前提。

虽然目前还没有证据表明SC直接参与交换的发生,但用磷钨酸(PTA)染色,可在SC某些区段见到电子密度较大的结构,称谓重组节(Recombination nodule)。重组节仅出现于粗线期的一短暂阶段,从出现的频率和位置来分析,认为其与交换的发生有密切联系<sup>[3]</sup>。

### 2. SC形成及发育

SC的形成起始于偶线期,一般说,同源染色体联会起始于端粒和核膜内接触点,然后沿染色体纵轴向着丝粒移动,同时出现中心组分。但联会也可始于同源染色体相互密切接触的其它部位,即多点配对。粗线期SC缩短变粗,这标志SC的成熟、双线期SC开始解体<sup>[4]</sup>。

关于X和Y性染色体之间有无同源性,减数分裂前期是否形成SC,是多年来一直有争议的问题<sup>[5]</sup>。应用常规染色方法,如地衣红或Giemsa染色精母细胞,一旦X和Y染色体配对,就会在性染色体周围积聚染色较深的物质,即所谓“性泡”。这一现象妨碍了对性染色体配对行为的研究。而SC技术的应用就可以克服这一缺点,并为之提供比较可靠的细胞遗传学证据。现已证明:性染色体配对要晚于常染色体配对,而分离又早于常染色体分离。早粗线期,可见Y的大部分和X的一部分局部配对,形成短而清晰的SC。随着粗线期的进程, X, Y染色体逐渐分离,最后形成D-MI期所见到的端-端连接现象,这表明X和Y染色体之确有部间

分同源性。但也有少数种系在整个减数分裂过程中, X和Y染色体不配对。

令人惊喜的是SC核型模式图的研究进展很快,这是细胞遗传学中的一项重要工作。因为它可以详细地揭示减数分裂染色体的行为规律,也是研究染色体畸变的基础。目前已绘制出许多物种的SC核型图,这些研究表明SC核型图和体细胞染色体核型图恰好吻合<sup>[6]</sup>。相信,随着该项工作的深入和完善,将有许多以往难以解决的问题都会迎刃而解。

## 二、SC的研究方法

早期研究SC是通过对减数分裂前期细胞电镜连续切片进行三维重组。这种方法费时费力,观察的细胞数目有限,而且在一张超薄切片上不可能观察到一条完整的SC,更谈不上整套SC。因此要想分析一套完整的SC,必须对许多连续切片加以分析。

Counce和Meyer(1973年)首次用整体表面铺展法从蝗虫的初级精母细胞分离出一套完整的SC。后来,这种方法经过不断改进,现已完全适用于哺乳动物的SC制备<sup>[7-8]</sup>。该法是先载玻片上涂有一薄层塑料膜,通过界面铺展制备SC标本,硝酸银或磷钨酸染色。然后光镜下挑选SC完整、分散良好、染色清晰的分裂相,放上铜网,清水漂洗,即可将SC标本转移到铜网上,做电镜观察。此种方法具有快速、简便、可以大量取材等优点,又充分发挥了电镜分辨力高的特性,因此是目前应用最广泛的一种方法。

近年来又出现一种新的免疫荧光化学方法<sup>[9]</sup>,此法是从动物体内制备SC抗体,结合荧光染色制备SC。这种方法为研究SC的化学组成、SC起源及种属特异性等问题提供了有效的手段<sup>[10-11]</sup>。

## 三、SC技术在辐射细胞遗传学中的应用

SC技术建立后,已广泛应用于医学和普通细胞遗传学,在辐射细胞遗传学中的应用也逐渐开始,总的有以下几方面的特点。

### 1. SC技术灵敏性高

以往研究电离辐射对生殖细胞染色体损伤常用的方法是观察初级精母细胞D-MI期多价体频率。精原细胞受照发生的染色体易位,在D-MI期常以四价体链或环的结构出现,但有时也会形成三价体和一个单价体,甚至有形成不等二价体的可能,这样在常规的D-MI分裂相中就不易被观察到。所以从理论上讲要低估辐射损伤的真实结果。Cawood<sup>[12]</sup>曾采用常规D-MI法和SC方法观察2.6Gy X射线照射叙利亚仓鼠后的结果,表明SC方法所得到的总异常率约是常规方法的2倍。Kalinskaya等<sup>[13]</sup>给12只雄鼠5Gy<sup>137</sup>Cs γ射线照射,与正常雄鼠交配,观察子代中可遗传性易位。经生育力筛选发现有四只F<sub>1</sub>雄鼠为完全不育,常规方法分析多价体发生率为25%,而用SC方法证明多价体发生率为75%,约为常规方法的3倍。可见单纯进行D-MI期细胞分析,的确使辐射后诱发精原细胞的结构畸变数量估计偏低。这在一般细胞遗传学研究中也得证实,如一不育男性外周血淋巴细胞染色体G显带分析,认为是一相互易位t(4; 9)(q25; p12),而减数分裂SC分析显示了六价体,即涉及三条染色体的复杂易位t(2; 4; 9)(p13; q25; p12)<sup>[14]</sup>。所以SC技术提供一个更灵敏、准确判断畸变的方法。

### 2. SC方法揭示的新现象

常规方法不仅低估了辐射后的真实结果,而且不能阐明某些现象。在生殖细胞发生过程中,减数分裂前期是一个非常长的阶段,一些重要事件,如联会-SC形成-交换-重组-分离等行为都发生在这一时期。然而前期染色体螺旋程度较中期低,很难制备良好的标本进行深入研究,所以只能观察上述

事件将近结束的D-MI期染色体的结构和行为。而利用SC技术后,许多新的遗传现象和规律被揭示。

Kalikinskaya<sup>[13]</sup>给雄鼠照射5.0Gy  $\gamma$ 射线后,在F<sub>1</sub>代中发现有四只完全不育小鼠,常规D-MI方法和SC方法分析四只F<sub>1</sub>雄鼠的结果对比如下:第一只常规方法为四价体链,SC分析为四价体,两者结果一致,认为不育的原因为相互易位;第二只小鼠常规D-MI细胞分裂相正常,而SC方法证明是常染色体和X染色体间的联会(形成多价体),说明该小鼠不育是由于性染色体和常染色体易位所致;第三只小鼠常规D-MI期无分裂相,而SC分析观察到罗伯逊易位、常染色体与X染色体易位、此外还见到一些联会异常,如回折配对、内部锁合。由于诸多复杂的结构畸变,导致生殖细胞在减数分裂过程中的中断,造成不育;第四只小鼠常规检查正常,SC分析也正常,因此不育的原因可能是内分泌失调或基因突变造成的。所以SC方法可以解释一些常规方法无法解释的现象,找出不育的真正原因。

Backer等<sup>[15]</sup>用X射线照射雄性小鼠,照后4天分析SC(即相当于减数分裂前DNA合成期受照),发现一种目前尚无明确解释的新构象,即在两个SC之间或一个SC的两个部分之间形成一种“银染桥”结构(silver-staining bridge)。分析该结构可能是一种半染色单体(subchromatid)交换,或者是Wennstrom<sup>[16]</sup>在照射后雄鼠的D-MI期中发现的染色体粘连(stickiness)现象。作为第一种可能,Backer认为,DNA合成期产生的半染色单体互换,DNA复制后可能转化成染色单体互换,这样在D-MI期就可以形成多价体结构。结果分析表明:SC方法中看到的桥结构为22%,而D-MI方法观察到的多价体为6%。这有两种可能,一是两者之间有内在的联系,由于SC方法灵敏,故检出率高;另一种可能就

是两者无内在联系,可能与染色体粘连有关。但在该实验中粘连现象并不明显,可见桥结构的实质还有待于进一步的研究。

3. 常规方法和SC方法分析结果之间的关系

前面介绍,精原干细胞受照SC方法与常规D-MI方法的结果比,前者约是后者的2~3倍,这种比例关系是否固定,两者之间有无规律可循,可否外推其它阶段受照。Backer<sup>[15]</sup>又分析分化型精原细胞受照的结果,照后4~5天分析SC,照后11天(相当于DNA合成期)分析D-MI期细胞,发现两组总畸变率一致,都为74%。但畸变类型有明显不同,SC表现出高频率的多轴结构,该结构是否转化成D-MI期的多价体,目前还不清楚,也可能是Wennstrom<sup>[16]</sup>在D-MI期看到的粘连结构;也许含这种结构的细胞在进入中期前就被淘汰。当分析断裂型畸变时,发现D-MI组等染色单体断裂明显高于SC分析结果,从理论上讲,D-MI期的等染色单体断裂应表现为SC侧生组分的断裂。但实际上SC断裂无明显增加,其原因尚不清楚。

当减数分裂前期受照分析两种结果之间的关系,问题就更加混乱。照后2h,可见SC断裂明显增加,照后一天,SC断裂减少,但侧生组分断裂增加,此时均未见多价体构象;而D-MI分析多价体改变非常明显。原作者认为这些多价体不是来源于染色体相互易位,而是来源于染色单体互换,这种单体互换在SC水平上体现不出来,最终演化成D-MI期可见的多价体构象。

从上述结果分析表明:只有在精原干细胞受照,SC方法和D-MI结果之间才有一定的比例关系可循,即SC方法检出率约为D-MI法的2~3倍。而在减数分裂前的分化精原细胞和减数分裂阶段照射,两种方法分析结果之间无上述规律。这些差异可能和许多因素有关,如(1)辐射导致DNA损伤后

的修复在各阶段可能不是同的；(2)前期(SC)和中期(D-MI)识别各种畸变类型的的能力不同；(3)减数分裂过程本身的参与，如干细胞受照和减数分裂前期受照，两者比例明显不同，这可能是干细胞受照，一些带有畸变的细胞很难通过前期进入中期，而被丢失；而减数分裂前期受照，多数带有畸变的细胞在被淘汰之前就已进入中期，故减数分裂过程对SC和D-MI结果有一定的影响。总之，SC方法可以提供一些新的、常规方法不可能得到的细胞遗传学证据。

#### 四、展 望

自SC技术问世以来，在细胞遗传学研究领域已取得令人瞩目的成绩。虽然SC技术在辐射细胞遗传学中的应用刚刚起步，但已取得许多成绩。国外已逐渐重视这方面的研究，而国内目前尚未开展这方面工作，需要我们及时赶上。由于SC技术的灵敏性高，且可以将光镜和电镜结合，使畸变断裂点的识别精确性大为提高。因此预期，随着SC技术的不断改进，其在辐射细胞学中的应用将会有广阔的前景。

#### 参 考 文 献

1 Heyting C et al. Eur J Cell Biol,

- 1985;36(2): 307-314  
 2 Moses MJ et al. Symp Soc Exp Biol, 1984; 38(3): 245-270  
 3 Carpenter ATC. Bioessays, 1987; 6(5): 232-236  
 4 Dietrich AJ et al. Chromosoma, 1981; 83(5): 409-418  
 5 张传善.东北师范大学学报, 1985; 4: 73-78  
 6 施立明.生物科学动态, 1986; 5: 5-11  
 7 史庆华等.动物学研究, 1989; 10(2): 85-87  
 8 Solari AJ. Chromosoma, 1980; 81(4): 315-337  
 9 Dresser ME. The synaptonemal complex and meiosis, an immunocytochemical approach. In: Moens PB eds. Meiosis, New York: Academic Press, 1987; 245-274  
 10 Heyting C et al. Eur J Cell Biol, 1987; 43(1): 148-154  
 11 Haaf T et al. Cytogenet Cell Genet, 1989; 50(1): 6-13  
 12 Cawood H et al. Mutat Res, 1983; 122(2): 149-154  
 13 Kalinskaya EI et al. Mutat Res, 1986; 174(1): 59-65  
 14 Saadallah N et al. Human Genet, 1985; 71(4): 312-320  
 15 Backer LC et al. Radiat Res, 1991; 125(2): 187-196  
 16 Wennstrom J. Commentationes Biologicae, 1971; 45(1): 1-60

## 放 射 损 伤 的 内 分 泌 改 变

第二军医大学 葛 勇 张家庆综述 麦智广审

**摘 要:**放射损伤可以直接或间接地引起内分泌腺和内分泌细胞的功能及形态改变，导致下丘脑神经内分泌功能损伤和垂体-肾上腺、垂体-甲状腺、垂体-性腺轴的损伤及功能紊乱；垂体生长激素分泌减少，催乳素分泌增加；胰岛素、前列腺素、肠道激素分泌减少。

内分泌系统作为维持机体内环境稳定的一个重要系统，对外界环境的变化和损害的反应极为迅速、灵敏，在受放射线直接或间接损伤后，某些内分泌腺或内分泌细胞有极其敏感的功能和形态改变，这些变化可以用来判断病情、指导治疗、估计预后。

### 一、放射损伤时内分泌改变的特点

全身外照射损伤时会相应地损害内分泌系统，内分泌系统肿瘤或内分泌腺体附近肿瘤的放射治疗均可直接损伤相应内分泌腺的功能。由于内分泌腺DNA、RNA含量丰富，