

DOI: 10.1360/yc-007-0614

## 45S rDNA 和 5S rDNA 在南瓜、丝瓜和冬瓜染色体上的比较定位

徐延浩, 杨飞, 程有林, 马璐, 王建波, 李立家

武汉大学生命科学院, 植物发育生物学教育部重点实验室, 武汉 430072

**摘要:** 首次利用荧光原位杂交和双色荧光原位杂交技术对 45S 和 5S rDNA 在南瓜(*Cucurbita moschata* Duch)、丝瓜(*Luffa cylindrical* Roem)、冬瓜(*Benincasa hispida* Cogn)的有丝分裂中期染色体上进行了物理定位分析。南瓜有 5 对 45S rDNA 位点, 2 对 5S rDNA 位点; 丝瓜具有 5 对 45S rDNA 位点, 1 对 5S rDNA 位点; 冬瓜具有 2 对 45S rDNA 位点, 1 对 5S rDNA 位点, 5S rDNA 位点与其中一对 45S rDNA 位点都位于 7 号染色体短臂上, 并在物理位置上紧密相邻。45S rDNA 在这 3 种作物染色体上数目变化较大, 但在染色体上都倾向分布在短臂末端, 其分布模式较为一致。5S rDNA 在这 3 种作物染色体上数目相对保守, 但在染色体上分布的位置变化较大。文中讨论了 45S rDNA 和 5S rDNA 在植物基因组中不同的进化趋势。

**关键词:** 葫芦科; 荧光原位杂交; rDNA; 核型进化

## Comparative analysis of rDNA distribution in metaphase chromosomes of Cucurbitaceae species

XU Yan-Hao, YANG Fei, CHENG You-Lin, MA Lu, WANG Jian-Bo, LI Li-Jia

Key Laboratory of MOE for Plant Development Biology, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China

**Abstract:** Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) and double FISH experiments were carried out to ascertain the chromosomal distribution patterns of the 45S and 5S ribosomal DNAs in the three species of Cucurbitaceae. Five pairs of 45S rDNA loci and two pairs of 5S rDNA signals were detected on chromosomes of *Cucurbita moschata* Duch. *Luffa cylindrical* Roem. contained five pairs of 45S rDNA loci and one pair of 5S rDNA loci. In *Benincasa hispida* Cogn., two pairs of 45S rDNA sites and one pair of 5S rDNA site were detected. In this species, 5S rDNA and one pair of the 45S loci were collocated closely in chromosome 7S. 45S rDNA chromosomal distribution patterns were highly conserved among the three species, although their number varied markedly. The 5S rDNA sites on chromosomes among the three species were highly polymorphic. We further discussed differentially evolutionary processes of 45S and 5S rDNA in plant genomes.

**Keywords:** Cucurbitaceae; fluorescence *in situ* hybridization; rDNA; karyotype evolution

荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)是一种简单而高效的在染色体上物理定位 DNA 序列的技术, 它可以将功能基因、重复序列等

目标 DNA 片段直接定位在染色体上<sup>[1]</sup>。FISH 技术现已成为研究基因组结构、功能和进化的重要手段之一<sup>[2]</sup>, 并在染色体物理作图, 染色体精细结构分析,

收稿日期: 2006-08-25; 修回日期: 2006-10-26

基金项目: 长江学者创新团队基金编号: PCSIRT, 国家自然科学基金(编号: 30571031、30521004)和湖北省自然科学基金(编号: 2005ABA097)

资助[Supported by the Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University (No.PCSIRT), National Natural Science Foundation of China (No. 30571031 and 30521004) and the Natural Science Foundation of Hubei Province (No. 2005ABA097)]

作者简介: 徐延浩(1981—), 男, 湖北仙桃人, 博士研究生, 研究方向: 植物分子细胞遗传学。E-mail: yanhaox@yahoo.com.cn

通讯作者: 李立家(1967—), 男, 湖北鄂州人, 教授, 博士生导师, 研究方向: 植物分子细胞遗传学。Tel: 027-68754505; E-mail: ljli@whu.edu.cn

外源基因染色体整合等领域发挥着重要的作用<sup>[3]</sup>。核糖体RNA基因(ribosomal DNAs, rDNA)是具有重要功能的保守重复序列,成簇分布于一对或多对染色体上<sup>[4]</sup>。通过荧光原位杂交技术将rDNA在染色体上进行物理定位,不仅可以为核型分析提供一个稳定有效的细胞学可识别的染色体标记,而且可以研究植物种属间的进化关系<sup>[5,6]</sup>,阐明染色体的结构变异等重要的遗传学问题<sup>[7]</sup>。目前,rDNA已在重要的模式作物和经济作物的基因组中进行了广泛的物理定位,为这些物种的染色体识别,基因组结构分析,物理图谱的构建,以及物种亲缘关系的研究提供了直接的信息<sup>[8-14]</sup>。

葫芦科(Cucurbitaceae)在全世界约 110~122 属,775~960 种,我国有 32 属,约 150 种,该科植物许多瓜果不仅可供观赏,作果蔬,而且有良好的药用价值,由于其较突出的经济用途而为学者们所注目<sup>[15]</sup>。但该科植物多为中小染色体,且不易染色,经典的细胞遗传学手段难于识别其染色体<sup>[16]</sup>,从而限制了进一步研究。分子细胞遗传学技术是研究中小染色体的一个有力工具,可以为小染色体提供可识别的染色体标记,为后续研究奠定基础。但在葫芦科中,分子细胞遗传学工作仅在甜瓜属(*Cucumis*)的黄瓜(*Cucumis sativus* L.)及其近缘种中有一些报道<sup>[17,18]</sup>,在其他属中还没有开展类似的工作。南瓜(*Cucurbita moschata* Duch.)、丝瓜(*Luffa cylindrica* Roem.)和冬瓜(*Benincasa hispida* Cogn.),是葫芦科重要的经济作物,是重要的蔬菜,也可供药用。但这 3 属与甜瓜属相比,染色体研究要落后很多,仅有关于染色体形态和核型的报道<sup>[16,19]</sup>,对于其基因组的结构,分子细胞遗传学领域的研究,至今还是空白。

在本实验中我们首次对 45S 和 5S rDNA 在这 3 种瓜类蔬菜中期染色体上的物理位置进行了定位,进一步建立了带有 45S 和 5SrDNA 标记的 FISH 核型图;比较了 rDNA 基因在这 3 种瓜类蔬菜基因组中的分布及种间差异,为葫芦科基因组研究提供了新的资料,为这 3 种作物的染色体识别提供了明确有效的标记,也为研究葫芦科物种分化过程中染色体的形态变化积累了分子细胞遗传学的资料。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

南瓜(*Cucurbita moschata* (Duch.) Poiret, 2n=40),品种为金沟南瓜;丝瓜(*Luffa cylindrica*(L.) Roem,

2n=26),品种为常德肉丝瓜;冬瓜(*Benincasa hispida* (Thumb.) Cogn, 2n=24),品种为粉皮冬瓜。种子直接购买于种子市场。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 染色体的制备

染色体制片按 Song 和 Gustafson<sup>[20]</sup>的方法稍加改进。取生长旺盛的根尖,室温用饱和 $\alpha$ -溴萘水溶液处理 3 h 后用新鲜卡诺固定液固定。用 2% 的纤维素酶(Sigma)和 2% 的果胶酶(Sigma)28 下酶解、水洗并固定等步骤后,采用火焰干燥法制片,-20 保存备用。

#### 1.2.2 探针标记

含有 45S 和 5S rDNA 序列的质粒由 Arumuganatha 教授惠赠。45S rDNA 和 5S rDNA 序列来源于番茄。碱裂解法提取 45S 和 5S rDNA 质粒。通过切口平移的方法用地高辛-dUTP(Digoxigenin-dUTP, Roche)和生物素-dUTP(biotin-dUTP, Roche)标记探针。其中,与南瓜杂交的 45S 和 5S rDNA 都用地高辛-dUTP 标记;与冬瓜和丝瓜杂交的 45S rDNA 探针用 Dig-dUTP 标记,5S rDNA 探针用 Bio-dUTP 标记。

#### 1.2.3 原位杂交及检测

染色体原位杂交按 Li 等<sup>[21]</sup>的方法,每张片子 40  $\mu$ L 杂交液,含 50% 的去离子甲酰胺(Sigma)和 10% 的硫酸葡聚糖(Sigma),2 $\times$ SSC,100 ng/ $\mu$ L ssDNA (Sigma),用 22 mm  $\times$  22 mm 的盖玻片盖片,80 共变性 3 min,于保湿皿中 37 杂交 12~48 h。

染色体原位杂交的检测及洗脱按 Li 等<sup>[21]</sup>的方法。杂交后的玻片用 2 $\times$ SSC 在室温及 37 各洗 10 min,用 1 $\times$ PBS 室温洗一次,然后开始检测。地高辛标记的探针第一步加入羊抗地高辛抗体(anti-digoxigenin-FITC, Roche),37 温育 30 min 后用 1 $\times$ PBS 室温洗 3 次,每次 5 min,第二步加入兔抗羊地高辛偶联物(rabbit anti-sheep-FITC, Roche),温育和洗脱同第一步。生物素标记的探针第一步加入链亲和素-Cy3(Streptavidin-Cy3, KPL Company),温育和洗脱与地高辛检测相同,再加入生物素化链亲和素(Biotinylated-anti-streptavidin, Vector Laboratories),温育和洗脱同第一步,然后重复第一步反应。

#### 1.2.4 图像检测及分析

检测完后,染色体制片用 5  $\mu$ L/mL DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole)复染,加抗淬灭剂 Vector-

shield(Vector Lab), 用 Olympus BX60 显微镜观察荧光原位杂交信号, 用 Photometrics SenSys CCD (charge coupled device)1400E 照相装置和 Metamorph 4.6.3(Universal Imaging Crop.)软件俘获图像, Photoshop7.0.1 软件进行图片处理。

## 2 结果

### 2.1 核型分析结果

用 MetaMorph 软件测量了各物种多个有丝分裂中期染色体的长度和臂比。参照李懋学, 陈瑞阳<sup>[22]</sup>等的标准对这 3 个作物进行核型分析, 结果见表 1。核型分类按照 Stebbins<sup>[23]</sup>的核型分类划分。

### 2.2 45S 和 5S rDNA 在有丝分裂中期染色体上的定位

45S 和 5S rDNA 的荧光原位杂交结果见图 1, 带 rDNA 标记的 FISH 核型模式图见图 2。各个物种至少检测 160 个有丝分裂中期分裂相, 统计了杂交信号的位置和个数, 检出率均高于 95%, 具体结果如下:

南瓜: 用 Dig-dUTP 标记的 45S 和 5S rDNA 探针分别与南瓜有丝分裂中期染色体杂交, 统计表明南瓜具有 5 对 45S rDNA 位点, 位于 2S、8S、12L、15S 近端部处的 4 对信号较强, 位于 17S 近端部处的信号较弱(图 1:A-C 和图 2: A); 5SrDNA 有两对位点(图 1:D-E 和图 2: A), 位于 3L 近着丝粒处的信号强度强于 10S 近端部处的信号(图 1: E), 这说明位于 3L 处的 5SrDNA 位点具有更多的拷贝数。

丝瓜: 用 Dig-dUTP 标记的 45S rDNA 和 Bio-dUTP 标记 5S rDNA 探针与丝瓜有丝分裂中期染色体进行双色荧光原位杂交, 绿色的信号为 45S rDNA, 红色的信号为 5S rDNA(图 1: G-J)。统计发现, 丝瓜有 5 对 45S rDNA 位点, 分别位于 1S、5S、9S、10S、11S 染色体的近端部处, 其中, 位于 11S 染色体上的 45S rDNA 信号强度要明显比其他几个位点的信号要弱一些(图 1: H 和图 2: B)。一对 5S rDNA 位于 4S 染色体中部, 靠近着丝粒(图 1: I 和图 2: B)。

冬瓜: 用 Dig-dUTP 标记的 45S rDNA 和 Bio-dUTP 标记的 5S rDNA 探针与冬瓜有丝分裂中期染色体进行双色荧光原位杂交(图 1: K-N 和图 2: C), 发现 45S rDNA 的信号可以在染色体上检测出两对(图 1: L), 其中信号较强的一对位于 6S 染色体近端部处, 信号相对弱一点的一对位于 7S 染色体近端部处(图 2:C); 而 5S rDNA 的信号只检测出一对(图 1: M), 也位于 7S 染色体近端部处(图 2: C)。通过双色荧光原位杂交, 我们可以很清楚的观察到, 冬瓜 5S rDNA 的红色信号与 45S rDNA 相对较弱的一对绿色信号位于同一染色体上, 并且信号紧密相邻(图 1: N), 这说明它们在染色体上物理位置很相近。同时, 双色荧光原位杂交

也很清晰的将这两对大小、形态相似的染色体区分开来了。

## 3 讨论

按 Stebbins<sup>[23]</sup>的核型分类标准, 具 1A 核型的丝瓜较为原始, 具 2B 核型的南瓜较为进化。我们所报道的这 3 种作物的核型类型与利容干<sup>[16]</sup>、陈瑞阳等<sup>[19]</sup>的报道是完全一致的, 但在核型公式, 平均臂比, 核型不对称系数上有细微的差别。这种差异可能是不同作物品种染色体结构微小的变异所造成的, 也有可能是染色体前处理、核型分析方法的差异所造成的。南瓜染色体很小, 很难识别其同源染色体, 但通过 45S 与 5S rDNA 在南瓜染色体上的定位, 我们很准确的识别了南瓜 5 对同源染色体。同时, 对于核型分析难于区分的丝瓜 4 号、5 号染色体, 冬瓜 6 号、7 号染色体, 通过 rDNA 在染色体上的定位, 提供了明确可区分的细胞学标记。由此可见, 荧光原位杂交技术是染色体识别的有力工具, 特别对于中小染色体, 为同源染色体识别、核型分析提供了有效的标记。

表 1 南瓜、丝瓜、冬瓜中期染色体核型分析

Table 1 Karyotype analysis of the three Cucurbitaceae species in this study

种类 Taxa	核型公式 Karyotype formula	平均臂比 Average arm ration	最长染色体/ 最短染色体 Longest / Shortest	臂比大于 2 的比率 Percentage of chromosome arm ration>2	核型不对称系数 Karyotype asymmetry index	核型类型 Type
南瓜 <i>C. moschata</i>	$2n=2x=40=22m+10sm+8st$	1.68	2.08	30	61.23	2B
丝瓜 <i>L. cylindrical</i>	$2n=2x=26=26m$	1.29	1.69	0	56.17	1A
冬瓜 <i>B. hispida</i>	$2n=2x=24=12m+12sm$	1.89	1.94	41.67	63.92	2A

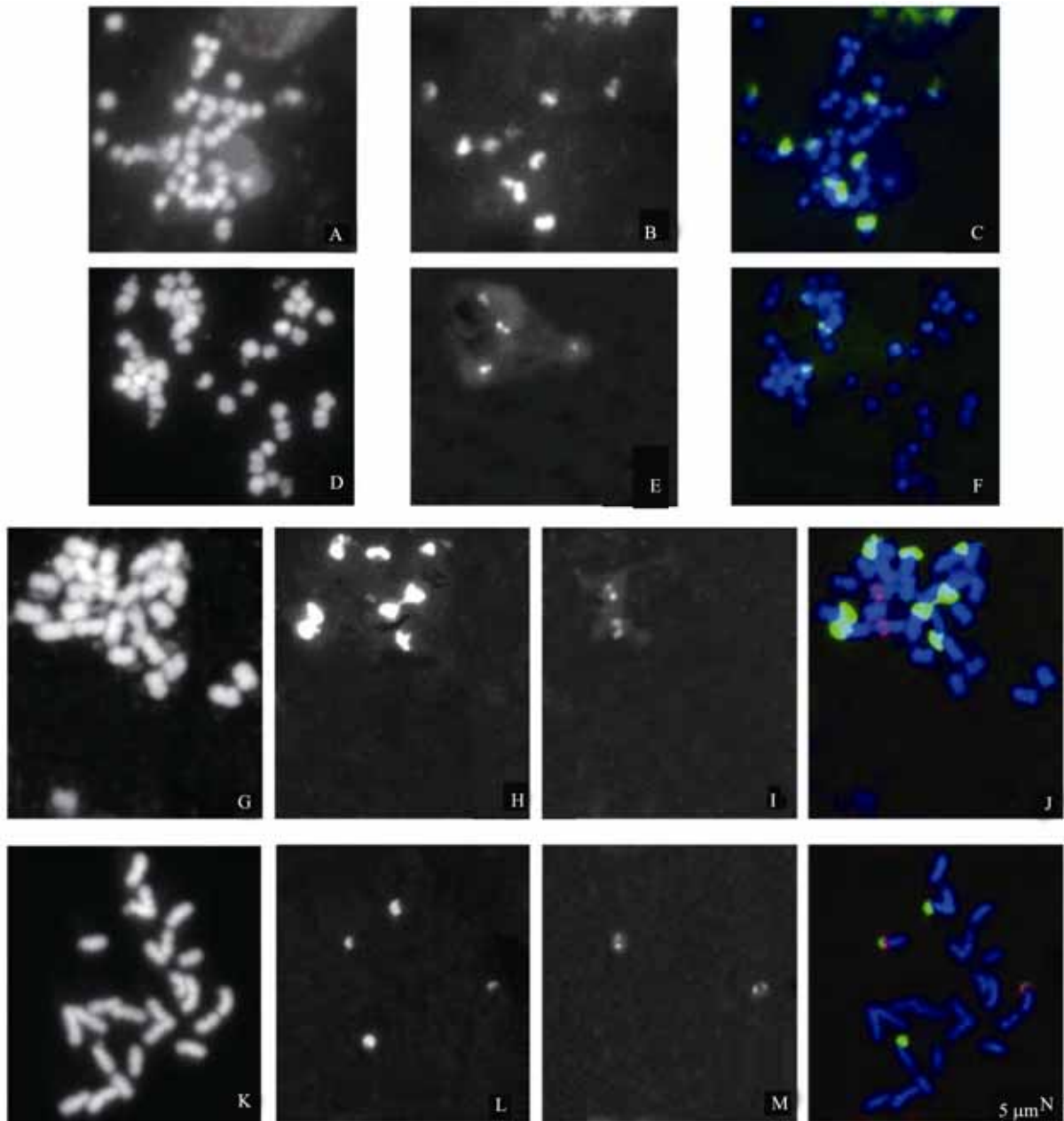


图 1 45S rDNA 和 5S rDNA 在三种作物有丝分裂中期染色体上的定位

A-C: 45S rDNA(绿色)在南瓜有丝分裂中期染色体上的定位。A: 南瓜有丝分裂中期染色体; B: 45S rDNA 杂交信号; C: 45S rDNA(绿色)与 DAPI 复染的染色体(蓝色)的合成图。D-F: 5S rDNA(绿色)在南瓜有丝分裂中期染色体上的定位。D: 南瓜有丝分裂中期染色体; E: 5S rDNA 杂交信号; F: 5S rDNA(绿色)与 DAPI 复染的染色体(蓝色)的合成图。G-J: 45S rDNA(绿色)和 5S rDNA(红色)在丝瓜有丝分裂中期染色体上的定位。G: 丝瓜有丝分裂中期染色体; H: 45S rDNA 杂交信号; I: 5S rDNA 杂交信号; J: 45S rDNA(绿色)和 5S rDNA(红色)与 DAPI 复染的染色体(蓝色)的合成图。K-N: 45S rDNA(绿色)和 5S rDNA(红色)在冬瓜有丝分裂中期染色体上的定位。K: 冬瓜有丝分裂中期染色体; L: 45S rDNA 杂交信号; M: 5S rDNA 杂交信号; N: 45S rDNA(绿色)和 5S rDNA(红色)与 DAPI 复染的染色体(蓝色)的合成图。所有图示比例尺为 5  $\mu\text{m}$ 。

**Fig. 1 FISH localization of 45S rDNA and 5S rDNA on metaphase chromosomes of the three species**

A-C: Physical location of 45S rDNA (green) on chromosomes of *C. moschata*. A: Metaphase chromosomes of *C. moschata*.; B: FISH signals of 45S rDNA; C: A merged image of the metaphase chromosomes and the FISH signals. D-F: Physical location of 5S rDNA (green) on chromosomes of *C. moschata*. D: Metaphase chromosomes of *C. moschata*.; E: FISH signals of 5S rDNA; F: A merged image of the metaphase chromosomes and the FISH signals. G-J: Physical location of 45S rDNA (green) and 5S rDNA (red) on chromosomes of *L. cylindrical*. G: Metaphase chromosomes of *L. cylindrical*.; H: FISH signals of 45S rDNA; I: FISH signals of 5S rDNA; J: A merged image of the metaphase chromosomes and the FISH signals. K-N: Physical location of 45S rDNA (green) and 5S rDNA (red) on chromosomes of *B. hispida*. K: Metaphase chromosomes of *B. hispida*.; L: FISH signals of 45S rDNA; M: FISH signals of 5S rDNA; N: A merged image of the metaphase chromosomes and the FISH signals. Bar = 5  $\mu\text{m}$ .

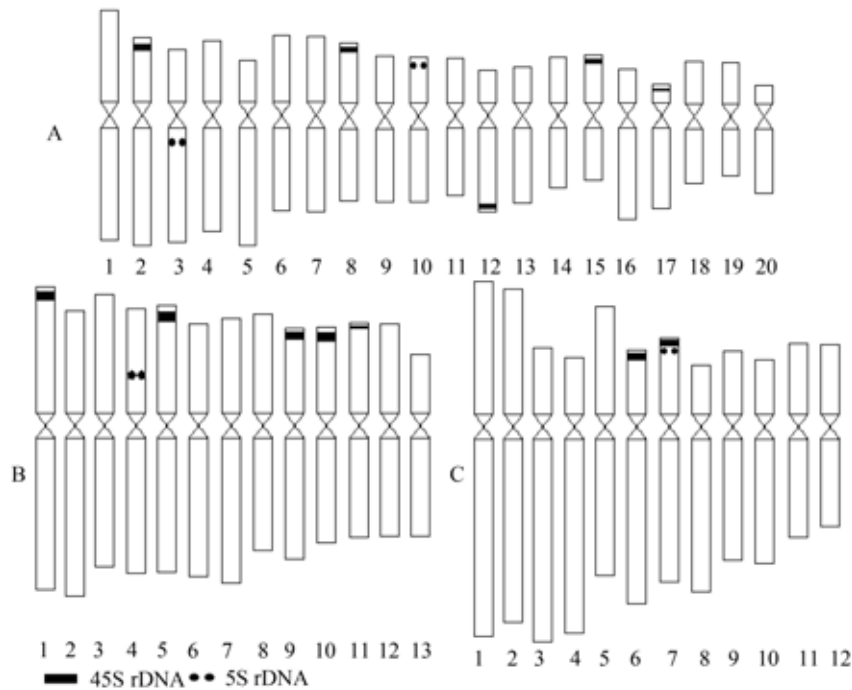


图 2 3 种植物中期染色体 FISH 核型模式图

A: 南瓜; B: 丝瓜; C: 冬瓜。

Fig. 2 Karyo-idiograms of three species showing FISH based localization of the two r-DNA sites (45S and 5S rDNA) on metaphase chromosomes

A: *C. moschata*; B: *L. cylindrical*; C: *B. hispida*.

Chen等<sup>[17]</sup>年首先利用FISH技术将45S rDNA定位在在黄瓜中期染色体上,发现有4对位点45S rDNA,位于着丝粒处。Koo等<sup>[18]</sup>利用FISH技术对黄瓜的45S与5S rDNA进行了染色体定位,结果表明黄瓜具3对45S rDNA和1对5S rDNA位点,都位于着丝粒处。而我们研究的3个物种中没有发现在着丝粒处的45S rDNA位点,这暗示黄瓜属和南瓜属、丝瓜属、冬瓜属的亲缘关系相对较远。葫芦科种属染色体基数的变化以及rDNA位点和数目在各个种基因组中分布的差异说明葫芦科在种属分化过程中可能经历了染色体的非整倍化以及染色体的断裂、重排、不等交换。

供试的3种植物中,45S rDNA在各基因组中的数目变化很大,但它们在染色体上的分布位置却很相似,都在染色体的近端部,并且主要在短臂的近端部处。45S rDNA数目高度的可变性已经在很多物种中被发现和证实。染色体重排,不等交换,由转座子引起的隐蔽rDNA拷贝数的扩增都可能是45S rDNA数目改变的原因。Mantovani等<sup>[24]</sup>认为45S rDNA分布在染色体端部的特点也可能是45S rDNA数目改变的原因之一,因为位于染色体端部位置的DNA更容易发生交换。45S rDNA参与构成核仁组

织区(NOR),在形态上一般表现为染色体的次缢痕,Lima-De-Faria<sup>[25]</sup>曾分析了700多个种的NOR,发现在87%的种中,NOR位于染色体的短臂上。Lim<sup>[26]</sup>、Mantovani等<sup>[24]</sup>都认为45S rDNA在染色体上的这种位置特征可能和其功能有关。Fransz等<sup>[27]</sup>认为在间期核中,常染色质与异染色质都是具有特定空间结构的,从而顺利实现基因的表达调控。是否45S rDNA受某种特定空间结构的制约而倾向特异分布在染色体端部呢?

与45S rDNA相比,5S rDNA在基因组中的数目相对变化较小,在冬瓜、丝瓜基因组中都只有一对位点,在南瓜基因组中有两对位点,但在染色体上的位置分布却各不相同。Mantovani等<sup>[24]</sup>发现在大部分已进行了5S rDNA定位的物种中,其数目以一对或两对为主,但在染色体上没有固定的分布模式。同时,他们也发现5S rDNA的数目和分布模式在属内比较保守。Liu等<sup>[28]</sup>的实验也表明,5S rDNA在5种亚洲松染色体的上都具有一对主要位点和一对次要位点,并且在染色体上的分布模式在属内是保守的。我们实验的结果表明5S rDNA的数目和分布模式在葫芦科3属间各不相同。这说明5S rDNA有可能为葫芦科属间的进化研究提供有用的信息。

目前, rDNA基因已经在很多植物基因组中进行了定位。从定位的结果来分析, rDNA基因在基因组中经历了广泛的进化, 其数目、大小、位置都具有很高的多样性。但是, 45S rDNA 与 5S rDNA 的进化模式并不一样。45S rDNA主要是数目、大小的变化, 而 5S rDNA除了数目、大小的变化, 更主要是分布模式的改变。Mantovani等<sup>[24]</sup>认为 45S rDNA 与 5S rDNA在功能上的分歧, 使它们在基因组中占据有各自的空间位置, 从而使它们具有各自独特的进化模式。

rDNA 在葫芦科染色体上的定位不仅是构建葫芦科作物物理图谱的第一步, 也有助于在细胞和分子水平上对葫芦科进行系统的研究。同时, 本研究为葫芦科这 3 种作物的核型分析提供了稳定有效的细胞学标记, 为葫芦科这 3 种作物的遗传育种奠定了分子细胞遗传学的基础。

#### 参考文献(References):

- [1] Jiang J, Gill BS. Nonisotopic *in situ* hybridization and plant genome mapping: the first 10 years. *Genome*, 1994, 37(5): 717–725.
- [2] Frello S, Heslop-Harrison JS. Chromosomal variation in crocus vernus Hill (Iridaceae) investigated by *in situ* hybridization of rDNA and a tandemly repeated sequence. *Ann Bot (Lond)*, 2000, 86(2): 317–322.
- [3] De Jong JH, Fransz P, Zable P. High resolution FISH in plants techniques and applications. *Trends Plant Sci*, 1999, 4(7): 258–263.
- [4] Pedersen C, Linde-Laursen. Chromosomal locations of four minor rDNA loci and a marker microsatellite sequence in barley. *Chromosome Res*, 1994, 2(1): 65–71.
- [5] Taketa S, Harrison GE, Heslop-Harrison JS. Comparative physical mapping of the 5S and 18S–25S rDNA in nine wild *Hordeum* species and cytotypes. *Theor Appl Genet*, 1999, 98(1): 1–9.
- [6] Vaió M, Speranza P, Valls JF, Guerra M, Mazzella C. Localization of the 5S and 45S rDNA sites and cpDNA sequence analysis in species of the *Quadrifaria* group of *Paspalum* (Poaceae, Paniceae). *Ann Bot (Lond)*, 2005, 96(2): 191–200.
- [7] Thomas HM, Harper JA, Morgan WG. Gross chromosome rearrangements are occurring in an accession of the grass *Lolium rigidum*. *Chromosome Res*, 2001, 9(7): 585–590.
- [8] Sang Y, Liang GH. Comparative physical mapping of the 18S-5-8S-26S rDNA in three sorghum species. *Genome*, 2000, 43(5): 22–28.
- [9] Hasterok R, Wolny E, Hosiawa M, Kowalczyk M, Kulak-Ksiazczyk S, Ksiazczyk T, Heneen WK, Maluszynska J. Comparative analysis of rDNA distribution in chromo-
- some of various species of Brassicaceae. *Ann Bot (Lond)*, 2006, 97(4): 205–216.
- [10] Han YH, Li LJ, Song YC, Li ZY, Xiong ZY, Li DY. Physical mapping of the 5S and 45S rDNA in teosintes. *Hereditas*, 2002, 137(1): 16–19.
- [11] Taketa S, Ando H, Takeda K, Ichii M, von Bothmer R. Ancestry of American polyploid *Hordeum* species with the I genome inferred from 5S and 18S–25S rDNA. *Ann Bot (Lond)*, 2005, 96(1): 23–33.
- [12] Cai Q, Zhang D, Liu ZL, Wang XR. Chromosomal localization of 5S and 18S rDNA in five species of subgenus *strobos* and their implications for genome evolution of *Pinus*. *Ann Bot (Lond)*, 2006, 97(5): 715–722.
- [13] GONG Zhi-Yun, WU Hsin-Kan, CHENG Zhu-Kuan, GU Ming-Hong. Physical mapping of the 45S rDNA and 5S rDNA to rice prometaphase chromosome. *Acta Genetica Sinica*, 2002, 29 (3): 241–244.  
龚志云, 吴信淦, 程祝宽, 顾铭洪. 水稻 45S rDNA 和 5S rDNA 的染色体定位研究. *遗传学报*, 2002, 29(3): 241–244.
- [14] SHE Chao-Wen, LIU Jing-Yu, SONG Yun-Chun. CPD banding patterns and identification of 45 S rDNA sites in tomato. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(10) : 1101–1107.  
余朝文, 刘静宇, 宋运淳. 番茄的 CPD 带型和 45S rDNA 位点的鉴别. *遗传学报*, 2005, 32 (10): 1101–1107.
- [15] QIU Ming-Hua, CHEN Shu-Kun, CHEN Jian-Chao, ZHOU Lin, LI Zhong-Rong, NIE Rui-Lin. Chemotaxonomy of Cucurbitaceae. *Chinese Journal of Applied Environmental Biology*, 2005, 11(6): 673–685.  
邱明华, 陈书坤, 陈剑超, 周琳, 李忠荣, 聂瑞麟. 葫芦科化学分类学. *应用与环境生物学报*, 2005, 11(6): 673–685
- [16] LI Rong-Qian. Studies on Karyotypes of Vegetables in China. Wuhan: Wuhan University Press, 1989, 8–9, 97–100.  
利容千. 中国蔬菜植物核型研究. 武汉: 武汉大学出版社, 1989, 8–9, 97–100.
- [17] Chen JF, Staub JE, Adelberg JW, Jiang JM. Physical mapping of 45S rRNA genes in *Cucumis* species by fluorescence *in situ* hybridization. *Can J Bot*, 1999, 77(3): 389–393.
- [18] Koo DH, Hur YK, Jin DC, Bang JW. Karyotype analysis of a Korean cucumber cultivar (*Cucumis sativus* L. cv. Winter Long) using C-banding and bicolor fluorescence *in situ* hybridization. *Mol Cells*, 2002, 13(3): 413–418.
- [19] CHEN Rui-Yang, SONG Wen-Qin, LI Xiu-Lan, LI Mao-Xue, LIANG Guo-Lu, AN Zhu-Ping, CHEN Cheng-Bin, QI Zhong-Xia, SUN Yu-Zhen. Chromosomes Atlas of Major Economic Plant Genome in China . Beijing: Science Press, 2003, 275–284.  
陈瑞阳, 宋文芹, 李秀兰, 李懋学, 梁国鲁, 安祝平, 陈

- 成彬, 齐仲夏, 孙雨珍. 中国主要经济植物基因组染色体图谱(第 2 册). 北京: 科学出版社, 2003: 275-284.
- [20] Song YC, Gustafson JP. The physical location of fourteen RFLP markers in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 1995, 90(1): 113-119.
- [21] Li LJ, Arumuganathan K. Physical mapping of sorted chromosomes 45S and 5S rDNA on maize metaphase and sorted chromosomes by FISH. *Hereditas*, 2001, 134(2): 141-145.
- [22] LI Mao-Xue, CHEN Rui-Yang. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1985, 3(4): 297-302.
- 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题. *武汉植物学研究*, 1985, 3(4): 297-302.
- [23] Stebbins GL. Chromosomal evolution in higher plants. London: Edward Aronld, 1971.
- [24] Mantovani M, Abel LD, Moreira-Filho O. Conserved 5S and variable 45S rDNA chromosomal localisation revealed by FISH in *Astyanax scabripinnis* (Pisces, Characidae). *Genetica*, 2005, 123(3): 211-216.
- [25] Lima-de Faria A. The chromosome field I. Prediction of the location of ribosomal cistrons. *Hereditas*, 1976, 83(1): 1-22.
- [26] Lim KB, Wennekes J, de Jong JH, Jacobsen E, van Tuyl JM. Karyotype analysis of *Lilium longiflorum* and *Lilium rubellum* by chromosome banding and fluorescence *in situ* hybridisation. *Genome*, 2001, 44(5): 911-918.
- [27] Fransz P, de Jong JH, Lysak M, Castiglione MR, Schubert I. Interphase chromosomes in *Arabidopsis* are organized as well defined chromocenters from which euchromatin loops emanate. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(22): 14584-14589.
- [28] Liu ZL, Zhang D, Hong DY, Wang XR. Chromosomal localization of 5S and 18S-5.8S-25S ribosomal DNA sites in five Asian pines using fluorescence *in situ* hybridization. *Theor Appl Genet*, 2003, 106(2): 198-204.

## · 遗传咨询 ·

### 我能和从表妹结婚吗？

**问：**我女朋友是我爷爷的妹妹的女儿的女儿。请问专家，我能和我女朋友结婚吗？是不是近亲？如果结婚对后代有什么影响？急求专家解答！

**答：**中国遗传咨询网自开办网上遗传咨询以来，不断有人咨询近亲结婚的问题。主要归纳为以下问题：

(1)如何判断是第几代近亲结婚？能否结婚？

从有共同祖先的那一代计起，算第一代，依此类推。如本咨询案例中，咨询者爷爷的父母属于他们的共同祖先，到咨询者这一代，属于第四代，即从表兄妹。近亲一般指 3~4 代内有共同祖先。我国婚姻法规定三代以内血亲禁止结婚。

(2)近亲结婚的遗传风险有多大？

近亲结婚的遗传风险一般指隐性遗传病的发生风险，通常以近婚系数来表示双方从共同祖先获得致病基因并传递给子女的概率。近婚系数的计算较繁杂，而且常染色体隐性遗传与 X 连锁隐性遗传计算起来有些不同。如本咨询案例中，若为常染色体隐性遗传病，其近婚系数为 1/64，而 X 连锁隐性遗传

传病的近婚系数为 0，即不用担心从共同祖先获得相同 x 连锁基因遗传给子女的可能。对于发病率较低的疾病，如白化病人群发病率一般低于 1/10,000，这种近亲结婚的风险率(如本例为 1/64)一般高于随机婚配；对于发病率较高的疾病，如我国南方的地中海贫血，人群中基因携带率高于 1/10，这种近亲结婚带来的风险(如 1/64)并不一定高于当地人群随机婚配引起的发病风险。因此，近亲结婚的遗传风险的评估是因病而异。

(3)一方为近亲结婚的后代时，能否与其结婚？

虽然为近亲结婚后代，如果其家族和本人没有明显的遗传病史，与其他非近亲的配偶结婚后，不应担心这种近亲结婚所引起的隐性遗传病的发病。或者说，对后代的影响与正常婚配没有明显差别。即使该近亲结婚的后代从共同祖先获得某种遗传病，这类婚配可使后代成为携带者，但不发病。

(咨询专家：李巍)