

赤狐骨髓染色体标本的制备*

李忠孝 左志民 张济安

(泸州医学院)

狐狸是一种珍贵的毛皮兽，国外曾报道过美洲红狐 (*Vulpes fulva*)^[1] 和赤狐 (*Vulpes vulpes*)^[2] 染色体的研究他们是采用外周血培养技术进行研究的。关于赤狐染色体的研究在国内迄今未见报道，为积累这方面的资料，本文介绍赤狐骨髓染色体的制备方法。

(一) 材料与方法 将于四川省古蔺山区猎回的一头雄性赤狐，采用骨髓细胞直接制作

法得到较好的染色体制片。步骤如后：给赤狐由腹腔注入 0.4% 秋水仙素（每 70 克体重 1 毫升），6 小时后以乙醚麻醉处死，迅速取出股骨和胫骨放于生理盐水中，去净肌肉和结缔组织，再移骨入 1% 的枸橼酸钠溶液中，用枸橼酸钠液冲洗骨髓，置离心管中，以 800—1000 转/分，离

* 本工作蒙四川大学张俊范作赤狐种的鉴定，昆明动物所罗丽华提供有关资料，特此致谢。

心约 10—15 分钟。弃去上清液,在室温下加入双蒸水(pH 6—7)4—6 毫升,打散细胞团块后低渗 20 分钟。再离心 10 分钟后弃去上清液,加入甲醇:冰醋酸(3:1)混合液 3—6 毫升,固定 15 分钟,打散细胞团块继续固定 15—20 分钟。然后用以上转速离心弃去上清液,再固定 30 分钟,又离心弃去上清液留管底部分,视细胞多少加少许固定液制成细胞悬液。取 2 滴滴于冰冷的洁净载片上,轻轻吹散,随即在酒精灯火焰上短时间反复来回通过。此过程宜在 1 分钟内完成。编号、染色后镜检观察。

(二) 赤狐的染色体核型观察 由上述方法得到的染色体标本,置高倍显微镜下观察了 137 个中期细胞,结果表明:赤狐染色体的二倍体数目是 $36(2n = 36)$,其中 17 对为常染色体,1 对为性染色体(见表 1)。

表 1 赤狐染色体计数统计

染色体数目	34	35	36	37	合计
细胞分布	4	14	115	4	137
占观察数%	2.9	10.2	84	2.9	100

根据测定结果,各对染色体大小顺序及着丝点位置和染色体核型(见图 1)。

按照染色体的相对长度和着丝点的位置,可将赤狐的 17 对常染色体分成 3 组,即 A 组:从第 1—8 对染色体,全为中部着丝点,组内各染色体对数可按长、短进行区别;B 组:第 9—16 对染色体,全为亚中部着丝点,组内 11—12 号染色体,由于相互之间相对长度和臂比指数相差甚微,因而很难区别。C 组:仅一对小的

近端着丝点“微小染色体”。这对染色体伸展平直后,着丝点几乎在中间位置。性染色体: X 染色体为一最大的亚中着丝点染色体,短臂约与整个染色体长度的 $1/3-1/4$ 。Y 染色体为一较小的近端着丝点染色体,它与常染色体中的一个近端微小染色体很相似(见表 2)。我国赤狐的染色体数目和核型与国外报道的 *Vulpes vulpes* 相近似。其变异尚待进一步研究。

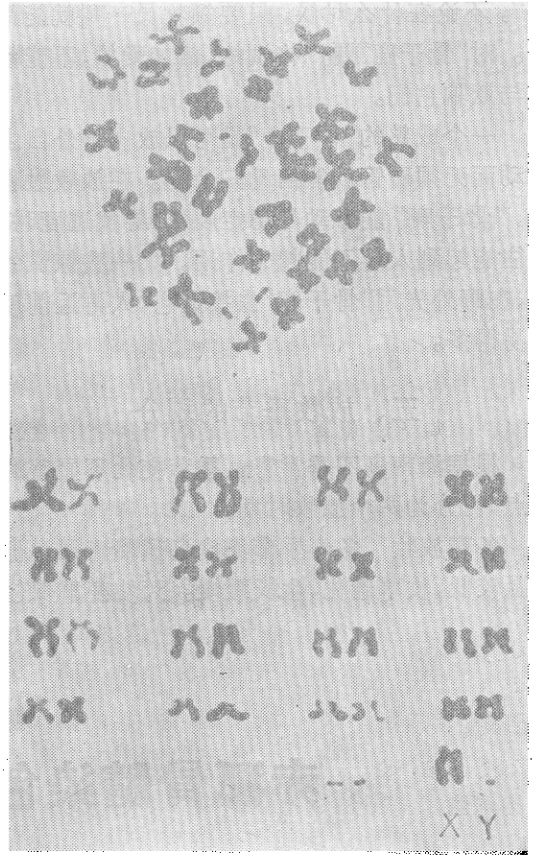


图 1 雄赤狐染色体核型

表 2 赤狐染色体长度测定

组别	A								B								C	性染色体		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	X	Y	
相对长度(%) (平均值)	7.47	7.25	6.73	5.90	5.75*	5.23	5.19	4.78	5.98	5.94	5.61	5.23	4.86	4.82	4.67	4.41	2.62	6.65	1.87	
着丝点指数(%) (平均数值)	5.00	44.85	44.44	50.0	44.16	46.43	49.64	44.44	37.50	37.74	40.00	40.00	38.46	34.11	36.00	40.68	28.09			
着丝点位置	中	中	中	中	中	中	中	中	亚中	亚中	亚中	亚中	亚中	亚中	亚中	亚中	亚中	近端	亚中	近端

(三) 讨论 在使用骨髓细胞染色体标本直接制作法时,要获得分裂相多,分散良好,染色单体清晰的染色体标本,必须注意以下几个问题。

1. 秋水仙素浓度 浓度低,染色体大都细长而显示浓缩不够,且停留于分裂中期的细胞少;浓度太高,染色体大都粗短,影响分析。另外,秋水仙素一定要注入动物腹腔内,方能获得较多的分裂相。

2. 低渗时间和低渗液的用量 时间过长或低渗液用量过多,均有可能导致细胞过早破裂而失去大量的分裂相;反之则分裂相减少或染色体堆积一处,不利于观察。

3. 取骨髓细胞 在剥离后腿肌肉、肌腱、暴露胫、股骨时,不能过分用力牵拉,以免使胫、股

骨或关节断离,造成骨髓细胞的丢失;剥离肌肉、肌腱取胫、股骨的速度要尽量快,时间过长容易引起溶血或血细胞变形。在冲洗骨髓细胞时,要注意用力均匀,要缓慢地、反复地进行才容易得到较多的骨髓细胞。

4. 适当的离心速度,足够的新鲜固定液和充分的固定时间,洁净无油、无杂质的载玻片,都是必须引起重视的问题。

参 考 文 献

- [1] Hsu .T.C. 1973 An Atlas of Mammalian Chromosomes, Permission from Springer. Verlag New York Inc. 7:334.
- [2] Hsu. T. C. 1974 An Atlas of Mammalian Chromosomes, Permission from Springer. Verlag New York Inc.8:380.