

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

PAWEŁ S. SYSA, JAN SŁAWOMIRSKI, EWA SŁOTA

Rozmieszczenie chromosomów płciowych w płytkach metafazalnych u bydła domowego (*Bos taurus*, L.)

Z Zakładu Histologii i Embriologii Instytutu Fizjologii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR w Warszawie
Z Kliniki Położniczej Instytutu Chorób Niezakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie
Z Zakładu Immunogenetyki Instytutu Zootechniki w Bałcach

Szereg autorów zajmujących się badaniem chromosomów zwróciło uwagę na układanie się ich w płytkach metafazalnych w sposób nieprzypadkowy (4, 5, 8, 9). Zauważono, że niektóre chromosomy mają tendencję do układania się na obwodzie rozsypanej metafazy, inne stosunkowo często sąsiadują z określonymi chromosomami, a między autosomami posiadającymi tzw. satelity obserwuje się związki w rodzaju asocjacji (8).

Powyższe obserwacje pozwalają przypuszczać, iż układ chromosomów mitotycznych rozsypanych na szkle (mimo działania na dzielącą się komórkę środowiska hypotonicznego w czasie przygotowywania preparatów, wpływu utrwalacza oraz ostatecznego rozzerwania komórki) jest odbiciem stosunków przestrzennych istniejących *in vivo* w jądrze komórkowym pomiędzy tymi chromosomami w okresie między-podziałowym. Dlatego też powstają pytania: jakie strukturalne i funkcjonalne właściwości komórki pozwalają na zachowanie przestrzennych zależności między chromosomami, nawet po jej rozbiciu w trakcie wykonywania preparatu oraz czy w komórce zwierząt domowych zachodzą takie powiązania, które można wykorzystać do identyfikacji chromosomów, względnie interpretacji zachowania się ich w żywej funkcjonującej komórce? To ostatnie zagadnienie dotyczy zwłaszcza tworzenia się fuzji centrycznych u bydła, prowadzących do zmienności kariotypu u tego gatunku zwierząt (13).

Aby odpowiedzieć na powyższe pytania należy możliwie dokładnie prześledzić wzajemne ułożenie chromosomów w dużej liczbie płytek metafazycznych, a celem niniejszej pracy była ocena położenia w nich heterochromosomów.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły płytki metafazalne uzyskane wg ogólnie przyjętych metod (12) z hodowli limfocytów krwi obwodowej bydła rasy nizinnej czarno-białej, nizinnej czerwono-białej, polskiej czerwonej oraz charolais. Chromosomy barwiono barwnikiem Giemsa. Analizą objęto 3500 płytek metafazalnych uzyskanych od 6 samic i 44 samców, przy czym uwzględ-

niano jedynie płytki rozsypane na polu o konturze zbliżonym do koła. Ocenę wykonywano głównie bezpośrednio pod mikroskopem — 3000 płytek; pozostałe 500 płytek analizowano ze zdjęć fotograficznych. Chromosomy płciowe oceniano pod względem ich ułożenia, tj. na obwodzie koła rozsypania lub wewnątrz pola płytki metafazalnej. Jednocześnie określano wzajemne położenie chromosomów płciowych, odpowiednio — chromosomu X względem X i chromosomu Y względem heterochromosomu X. Jako położenie „razem” uznawano taką sytuację, kiedy obydwa chromosomy płciowe leżały obok siebie w odległości nie większej niż szerokość dwóch chromatyd. W związku z występowaniem asocjacji chromosomów wynikających z funkcji jąderkotwórczych niektórych autosomów, przeprowadzono ocenę występowania u bydła tzw. organizatorów jąderkowych — prążka N według metody Goodpastur i Bloom (6).

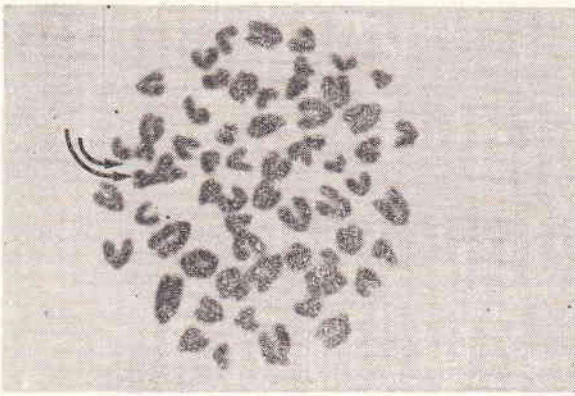
Wyniki badań

Analizując wyniki badań zestawione w tab. 1 stwierdzić należy, iż na ogólną liczbę 3500 przeanalizowanych płytek metafazalnych bydła, chromosomy płciowe XX i XY wystąpiły w ułożeniu „oddzielnie” w 3304 płytkach — co stanowi 94,4%; natomiast w ułożeniu „razem” w 196 płytkach tj. w 5,6% przypadków.

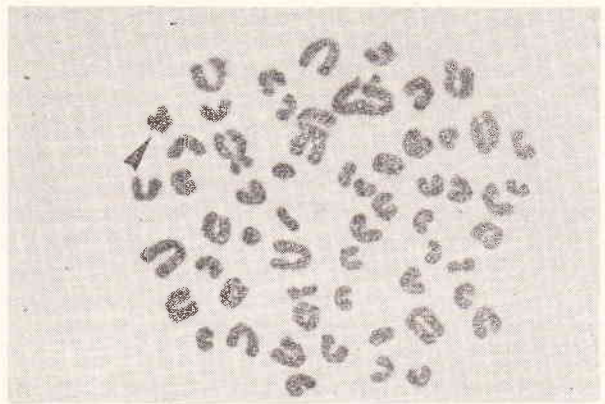
Tab. 1. Ocena wzajemnego położenia chromosomów płciowych w płytkach metafazalnych u bydła

Ułożenie w płytce	Chromosomy płciowe					
	XX		XY		ogółem	
	liczba	%	liczba	%	liczba	%
„razem”	151	6,6	45	3,7	196	5,6
„osobno”	2132	93,4	1172	96,3	3304	94,4
Ogółem	2283	100,0	1217	100,0	3500	100,0

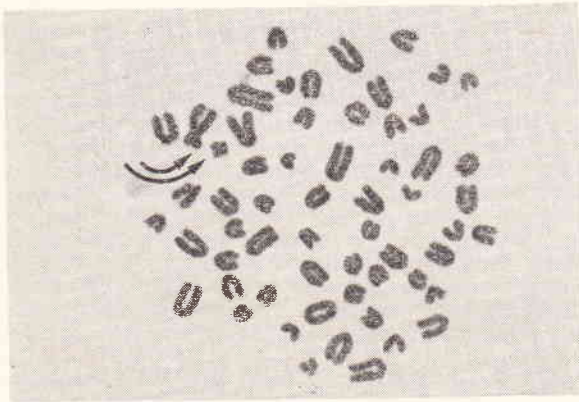
Z obserwacji chromosomów płciowych prowadzonej oddzielnie dla komórek samców i samic wynika, że na 2283 płytki metafazalne krow chromosomy XX stwierdzono „razem” jedynie w 6,6% przypadków (ryc. 1), natomiast „oddzielnie” w 93,4% płytek. Jeszcze wyraźniej różnica ta występuje w płytkach metafazalnych u samców, gdzie na 1217 płytek ułożenie chromosomów XY „razem” stwierdzono jedynie w



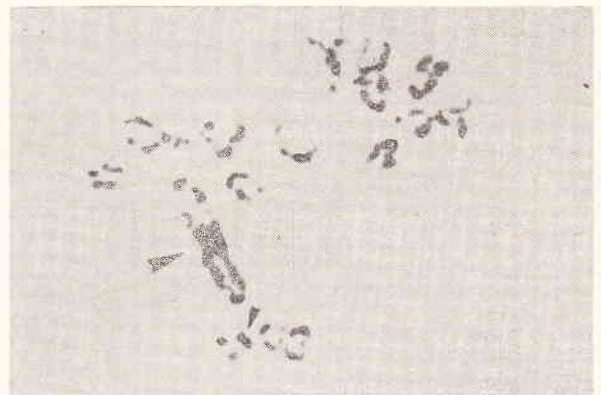
Ryc. 1. Płytki metafazalna krwi z chromosomami XX ułożonymi „razem”



Ryc. 3. Płytki metafazalna buhaja z chromosomem Y zlokalizowanym na obwodzie. Chromosomy płciowe leżą oddzielnie



Ryc. 2. Płytki metafazalna buhaja z chromosomami XY ułożonymi „razem”



Ryc. 4. Rejony jąderkotwórcze — prążki N na chromosomach buhaja (oznaczone strzałką). Strzałka duża wskazuje „mostek” powstały w wyniku połączenia prążków N na końcach dwóch autosomów. Fragment płytki metafazalnej

3,7% przypadków (ryc. 2), natomiast w pozostałych płytkach chromosomy te ułożone były „oddzielnie”. Badania nasze nie potwierdziły obserwacji Goldmana (4), który stwierdził ułożenie chromosomów XX „razem” w około 20—25% płytek metafazalnych.

Z przeprowadzonych badań wynika również iż w znacznym odsetku przeanalizowanych metafaz jeden lub dwa chromosomy płciowe X u samic (63,3% metafaz) i chromosom Y u samców (35,6% metafaz), układają się na obwodzie pola płytki metafazalnej (ryc. 3). W przypadku samic wynikać to może z lokalizacji nieaktywnego chromosomu X w okresie międzypodziałowym na obwodzie jądra, przy błonie jądrowej, co przejawia się wówczas obecnością tzw. chromatyny płciowej X, zwanej dawniej ciałkiem Barra (11). Podobnie tłumaczyć można lokalizację chromosomu Y na obwodzie płytki w komórce samców. Chromosom ten u ssaków bywa również zlokalizowany przy błonie jądrowej, jako grudka nieaktywnej chromatyny (7).

W rutynowo barwionych preparatach nie było możliwym ocenienie zależności między autosomami, ze względu na niemożliwość ich precyzyjnej identyfikacji. Stwierdzić jednak



Ryc. 5. Asocjacje centryczne między autosomami u krwi

należy, iż asocjacje takie występowały. Możliwość powstania połączeń asocjacyjnych ilustruje ryc. 4, na której na końcach chromatyd uwidocznione zostały prążki N za pomocą metody Goodpastur i Bloom (6). W niektórych przypadkach prążki N mogą tworzyć „mostki” pomiędzy poszczególnymi chromosomami. Podstawę asocjacji upatrywać można w udziale chromosomów w tworzeniu jąderka i umiejscowieniu w nim rejonów jąderkotwórczych określonych chromatyd oraz w występowaniu towarzyszących im białek chromosomalnych rejonu jąderkotwórczego, które sprzyjają łączeniu się tych okolic chromosomów. Białka te są zdolne do przetrwania nawet rozpadu komórki.

Wyjątek wśród asocjacji chromosomalnych w naszych obserwacjach stanowi przypadek komórki, w której w związku asocjacji centrycznych weszły prawie wszystkie chromosomy (ryc. 5).

Problem asocjacji centrycznych u bydła domowego wymaga dalszych wnikliwych badań, ponieważ u tego gatunku zwierząt wykryto dotychczas szereg przypadków różnych fuzji centrycznych typu 1/29, 2/4, 11/16 itp., mających u nosicieli (jak w przypadku fuzji 1/29) swoje odzwierciedlenie w obniżonej płodności (10, 13).

Zagadnienie lokalizacji chromosomów w płycie metafazalnej oraz w jądrze interfazalnym jest jednym z bardziej zasadniczych problemów komórkowych. Przypuszczalnie wszystkie chromosomy, nie tylko nieaktywne chromosomy płciowe, posiadają swoje określone miejsca przyczepu do wewnętrznej powierzchni błony jądrowej (1, 2).

Niedawno wysunięta została ponadto bardzo ciekawa, chociaż dyskusyjna hipoteza mówiąca, że w jądrze komórkowym znajduje się tylko jedna nić DNA, która ulega w pewnych miejscach kondensacji, wytwarzając struktury widoczne w metafazie pod postacią chromosomów (3). Lokalizacja chromosomów wewnątrz jądra może mieć wpływ na ich funkcjonowanie, do oceny której zmierzała również niniejsza praca.

Przedstawione w niniejszym doniesieniu wyniki, uzyskane na dużej ilości materiału, pozwalają wnioskować, iż wzajemne ułożenie chromosomów płciowych w płytkach metafazalnych u bydła jest raczej przypadkowe, natomiast tendencja do obwodowego układania się jednego z chromosomów płciowych może wynikać z ich obwodowej, tj. przy błonie jądrowej lokalizacji w czasie interfazy komórki.

Piśmiennictwo

1. Comings D. E.: Ann. J. Human Genet. 20, 440, 1968.
2. Comings D. E., Okada T. A.: Expl. Cell Res. 63, 62, 1970.
3. Emmerich G., Scharrer S., Stengel-Rutkowski S., Lang K. G.: Humangenetik 19, 227, 1973.
4. Goldman I. L.: Reprod. genet. hosp. zv. 1978 — praca w druku.
5. Goldman I. L., Zhivalev I. K.: Citologija i Genetika 7, 3, 1973.
6. Goodpasture C., Bloom S. E.: Chromosoma (Berl.) 53, 37, 1975.
7. Hübner H., Dzida J., Jaske J.: Acad. Pol. Sci., Serie sci. biol. 21, 203, 1973.
8. Hübner H., Sysa P.: Folia Morph. (Warsz.) 31, 201, 1972.

9. Kowrzyk H., Steinhaus H., Szymantec S.: Biul. Acad. Pol. Sci. 13, 321, 1965.
10. Loida L., Sysa P.: Reprod. genet. hosp. zv. 3, 11, 1974.
11. Osuchowska Z., Sumiński E.: Folia Morphol. (Warsz.) 16, 193, 1957.
12. Sysa P., Bajdecka J.: Medycyna Wet. 31, 359, 1975.
13. Sysa P. S., Sławomirski J.: praca przygotowywana do druku.

Adres autora: dr Paweł Sysa, ul. Nowoursynowska 166, 02-766 Warszawa.

Сыса П. С., Славомирский Я., Слота Э. — **Размещение половых хромосом в метафазальных пластинках крупного рогатого скота (*Bos taurus*, L.).**

Исследования провели на 3500 метафазальных пластинках, полученных из культуры лимфоцитов периферической крови крупного рогатого скота 4 пород.

Окрашиваемые красителем Гемзы метафазальные пластинки анализировались непосредственно под микроскопом и с фотоснимков. Проведенный анализ относительно размещения половых хромосом показал, что эти хромосомы у крупного рогатого скота чаще всего (94,4% метафиз) расположены „отдельно”. Лишь в немногих метафазах (5,6%) обнаружили расположение „вместе”, т.е. такое, где расстояние между хромосомами не превышает толщины 2 хроматид. В высоком проценте анализированных клеток одна из половых хромосом находилась на окружности метафазальной пластинки. Исследования показали также наличие ассоциации между автосомами. Примененный метод полосок и обнаружили на концах хроматид отдельных автосом полоски N, которые со временем могут образовывать „мостики” между отдельными хромосомами.

Полученные результаты показывают, что взаиморасположенные половых хромосом в метафазальных пластинках крупного рогатого скота случайно.

Sysa P. S., Sławomirski J., Słota E. — **The distribution of sex chromosomes in metaphasal plates in cattle (*Bos taurus* L.).**

The studies were performed on 3500 metaphasal plates from a culture of peripheral blood lymphocytes of cattle of four different breeds. The metaphasal plates stained by Giemsa method were analysed directly under a light microscope and on photographs. The analysis of sex chromosomes revealed that in cattle they are most often (94.4%) distributed separately. Only in not numerous metaphases (5.6%) they appeared jointly e.g. a distance between the chromosomes not exceeded two-play of chromatides. In a high percent of the analysed cells one of sex chromosomes was situated on a periphery of metaphasal plate. The studies revealed also the presence of associations between autosomes. The applied method of N lines showed on the ends of chromatides of autosomes N lines, which can form sometimes „bridges” between individual chromosomes.

The obtained results point that mutual composition of sex chromosomes in metaphasal plates is accidental.

DARCEL C. Q.: Antygen wiążący dopełniacz w wątrobie ptaków zakażonych wirusem białaczki ptaków (wirus erythroblastozy). (A complement fixing antigen in the livers of birds infected with an avian leukovirus (Erythroblastosis virus). Can. J. comp. Med. 42, 235—238, 1978 (2).

W wątrobie ptaków zakażonych wirusem erythroblastozy (Eb) występują duże ilości antygenu wiążącego dopełniacz. Antygen ten można ekstrahować z wątroby zakażonych kurcząt na drodze kwaśnej ekstrakcji. Antygen ten nie jest zupełnie związany z cząsteczkami lub podjednostkami wirusa. Antygen można oczyścić na drodze ultrawiwrowania.

G.