

灯刷染色体的研究进展及其在遗传学教学中的思考

陈凡国^{1,2}, 李晴晴²

1. 山东大学生命科学院遗传学教研组, 济南 250100

2. 山东大学植物细胞工程与种质创新教育部重点实验室, 济南 250100

摘要: 灯刷染色体是存在于除哺乳动物以外几乎所有动物雌配子减数分裂第一次分裂双线期的一种暂时性巨大转录体, 因状如灯刷而得名, 但在细胞遗传学三大经典染色体研究中关注度最低。它是研究减数分裂时期染色体的结构、组织形式、转录和转录过程的好材料。本文一方面对以上研究及形成机制作一简要综述, 另一方面探讨灯刷染色体可能的作用, 也即从已有文献表明卵细胞核的灯刷染色体或多倍化为相关生物胚胎发育提供足够的转录产物。最后探讨将其作为一个案例用于遗传学教学的可能性, 以激发学生学习遗传学的兴趣。

关键词: 遗传学; 细胞遗传学; 灯刷染色体; 研究进展; 遗传学教学

Research progress in lampbrush chromosomes and some suggestions for their use in genetics teaching

Fanguo Chen^{1,2}, Qingqing Li²

1. Genetic Teaching and Research Group, School of Life Science, Shandong University, Jinan 250100, China;

2. The Key Laboratory of Plant Cell Engineering and Germplasm Innovation, Ministry of Education, School of Life Science, Shandong University, Jinan 250100, China

Abstract: Lampbrush chromosomes (LBCs) are transient giant transcripts that exist at the diplotene stage of the first meiotic division in female gametocytes of almost all animals except mammals. LBCs are named for their lampbrush-like structure, however, they received the lowest research attention in studies of three classical cytogenetic chromosomes. They have been excellent models for studying the structure, organization, transcription, and transcriptional processing of chromosomes during meiosis. Here we briefly summarized these studies and LBCs forming mechanism and also discussed their possible functions, such as providing enough transcriptional products for embryonic development by oocytes LBCs or polyploidy demonstrated by previous reports. Finally, we discussed the possibility of introducing this typical case into our genetics teaching to inspire students' interest in genetics.

Keywords: genetics; cytogenetics; lampbrush chromosomes (LBCs); research progress; genetics teaching

收稿日期: 2015-10-08; 修回日期: 2015-11-04

基金项目: 山东大学青年教师教学项目(编号: 2010-94-24)[Supported by Young Teacher Teaching Program of Shandong University (No. 2010-94-24)]

通讯作者: 陈凡国, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 植物细胞与基因工程研究与遗传学教学。E-mail: fanguo2002@sdu.edu.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.15-417

网络出版时间: 2015/12/22 16:47:19

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20151222.1647.001.html>

遗传学是生命科学领域中一门兼具理论性和实验性的基础性学科之一,从遗传学发展史上可以清楚地看到一系列经典的研究案例对遗传学的发展起到巨大的推动作用^[1],赋予遗传学新的内容,使遗传学理论不断地完善和提高,从而在更高水平指导遗传学的发展。例如果蝇和豌豆因其丰富的表型在性状遗传研究上成为经典研究案例,奠定了遗传学的初创和发展;唾腺染色体和灯刷染色体因其形体的巨大性和特异的细胞结构,促进了细胞遗传学的发展;以噬菌体为材料促进了生化和分子遗传学的发展;以大肠杆菌为材料的研究揭示了原核表达调控的机制;以拟南芥和水稻为材料解析了植物基因组的特点并促进了植物功能基因组学的研究^[2,3]。这些案例还有很多,限于篇幅不一一枚举。

不过,关于遗传学发展史上经典案例的研究和关注并不平衡。例如在细胞遗传学三大经典染色体的研究中,关于唾腺染色体和巴氏小体的研究很多,而灯刷染色体(Lampbrush chromosomes, LBCs)的关注度较低。尽管 LBCs 因拥有数以万计的正在转录的单位而具有了结构的巨大性,但在过去的 130 多年中公开发表的文献仅有 350 多篇(<http://www.projects.exeter.ac.uk/lampbrush>)。究其原因可能有 4 点:一是分离 LBCs 技术难度较大;二是所使用的仪器是显微镜,而不是时髦的微量移液器,导致学生的兴趣不足;三是可用分离该染色体的典型材料不易取得,多数动物材料都是各国重点保护的动物;四是可能由于偏重理论研究,无法取得足够的经费支持^[4]。尽管如此,LBCs 的研究仍然取得了令人兴奋的成绩,本文拟沿着 LBCs 研究的踪迹,比较系统地综述相关生物卵细胞减数分裂第一次分裂双线期染色体的结构、组织形式以及转录等相关知识。最后将这一被忽视的“明星染色体”案例介绍给学生,以期引导学生对 LBCs 研究的重视,激发他们学习和研究遗传学的热情。

1 灯刷染色体的研究进展

1882 年,Flemming 首先在蝶螈(*Notophthalmus viridescens*)的卵母细胞中发现了这种结构^[5],10 年之后,Rückert (1892)在狗鲨(*Chiloscyllium punctatum*)

卵母细胞中再次发现了 Flemming 所描述的结构,因为其形如 19 世纪的灯刷或 20 世纪的试管刷而命名为灯刷染色体^[6]。典型的 LBCs 实质上是存在于除哺乳动物以外几乎所有动物(在两栖类、鸟类和昆虫类都有很好的研究)雌配子减数分裂第一次分裂双线期的一种暂时性巨大转录体,大小可以达到 5~6 mm。细胞核中每个 LBCs 是二价体(一对同源染色体),核中有几个二价体就有几个 LBCs,每个二价体包含四条染色单体,同源染色体通过交叉(Chiasmata)相连。它们具有独特的染色粒—侧环(Chromomere-lateral loop)结构:染色粒串联形成单体的主轴,是遗传惰性区;显著的侧环结构则为转录活性区,包括了成千上万的活性转录单元^[7]。随着转录的进展,RNA 链不断延长,外形呈“圣诞树”样结构。除了在以上动物的卵细胞中发现 LBCs 外,在果蝇精子细胞 Y 染色体和植物中也有发现,比如在单细胞藻类(*Acetabularia*)中发现有典型的 LBCs 结构^[8],其它所报道的植物 LBCs 不具有典型结构,只是一条较长的染色体,周围有绒毛状的结构。由于 LBCs 在普通光学显微镜下可以看到,因而它是研究基因组结构和功能的极为理想的实验材料^[9]。

1.1 灯刷染色体的基本结构和细胞图

在普通光学显微镜下,在外观上看每一个典型的 LBCs 两个同源染色体依靠几个交叉相连,它们分别由无数致密的染色质颗粒或染色粒串成线状,这些颗粒之间有染色质丝相连,在每一颗粒或染色粒处产生 1 至数个成对的侧环,这就构成了所谓 LBCs 上的“刷毛”^[10]。这些环之所以成对出现是由于姐妹染色单体之间没有任何联系造成的。利用扫描电镜或电镜技术结合免疫技术对来自不同物种的 LBCs 进行观察,发现侧环是以纤细的染色质为轴,上面覆盖了无数的核糖核蛋白(Ribonucleoprotein, RNP)颗粒。由于 RNP 颗粒相互聚集和沿侧环轴向的卷曲会将正常状态的侧环一步一步装配形成小颗粒、颗粒球和紧密块状物等更高级的侧环结构^[11],因而形成了光学显微镜下可见的巨大染色体。

染色粒和连接它们的染色质丝构成了 LBCs 的轴,轴上最显著的特点就是染色粒—侧环结构,某些有明显特征的侧环往往成为鉴定染色体特异性的界

标(Landmark), 比如在两栖类中, 几乎大部分灯刷染色体都有巨大的侧环, 只是位置不同, 所以可以区分不同的染色体; 另一类是有特异结构的侧环, 分为高密度侧环和块状侧环, 也存在于很多染色体不同位置中。轴上除了染色粒和侧环外, 还有着丝粒、端粒、球体等结构。这些结构常常出现在特定染色体的固定部位, 成为鉴别各条染色体的界标^[11]。染色粒(Chromomere)是 LBCs 轴的主要成分。在配对的同源染色体中, 染色体轴上染色粒的数目和分布大体相同, 但形状不很规则。在最初形成的 LBCs 上, 单体灯刷染色体染色粒的数目可以达到 5000 个以上, 在光镜下染色粒大小从不可见到可见的 $1\ \mu\text{m}$ 。据估算, 一个有尾目的两栖动物 LBCs 的染色粒所包含的碱基数目约 5~10 Mb, 而侧环中仅有 50~150 kb 的 DNA^[10]。染色粒的数目和大小与物种和减数分裂的推进有关, 也随侧环转录活性而变化。随着减数分裂的推进, 染色粒逐渐变大, 数目减少。在早期的 LBCs 中侧环转录活性高, 这时染色粒小, 数目多; 随着双线期的推进, 侧环因转录活性下降而回缩, 染色粒彼此融合最终成一条正常的分裂期染色体^[12]。侧环(Lateral loop)是 DNA 活跃转录的区域, 仅占整个 LBCs DNA 总量的 0.2%~0.4%, 其与染色粒的边界序列有无特异性现在尚不清楚^[10]。在两栖类中, 它们的长度与 C 值呈正相关, 平均长度为 10~15 μm , 长的可达 200~300 μm , 这些长的侧环具有染色体的特异性。多数侧环上只有一个转录单位, 转录方向可以相同或相反, 利用转录抑制子的研究发现, 这些转录多数由 RNA pol II 启动。侧环的产生并不同步, 某些侧环能贯穿 LBCs 整个发育期; 有些仅在个别时期产生, 失去转录活性后回缩到染色粒中。激素处理也能影响侧环的伸展和回缩, 这点与果蝇的唾腺染色体的蓬突结构类似, 其发生机制和意义有待进一步的研究。由于转录产物的种类、数量和堆积状态不同, 在某些染色体轴的特定部位可以形成不同类型的侧环, 这成为区分不同 LBCs 的重要界标^[13]。LBCs 的着丝粒(Centromere)有二种形态: 一种是在某些两栖类中称为着丝粒颗粒, 在鸟类中则为蛋白体(Protein body), 其大小形态与前后染色粒不易区分, 另一种主要在两栖类发现, 着丝粒和其两侧相邻的染色粒彼此融合而成染色粒棒(Chro-

momere bar)。先前的报道表明着丝粒颗粒和染色粒棒上均无侧环, 最近的报道称某些鸟类的蛋白体有短的侧环产生^[14]。关于端粒(Telomere)的观察主要来自鸟类, 在姐妹染色单体的末端分别形成端粒环(由染色单体的末端插入邻近的染色粒所致), 通常情况下, 端粒环是开放的, 也存在一个插入一个开放的形式, 其大小和长度具物种的特性。端粒环两侧无侧环, 鸡的端粒环含有 2 个转录单元^[15], 关于 LBCs 着丝粒和端粒可以转录在欧洲水蛙中也得到证实, 一些串联重复序列可以在该类结构中大量转录^[7]。球体(Sphere organelles)是 LBCs 上另一个重要标志, 有染色体的特异性, 相当于一般染色体的次级缢痕。其直径一般 2~10 μm , 一般包含 2~4 个^[10]。以上这些结构由于在序列组成、位置、结合蛋白以及形成的高级结构上具有染色体或物种的差异, 结合 LBCs 的长度差异, 现在已经绘出了多种两栖类和鸟类的 LBCs 细胞图^[7]; 利用细菌人工染色体-荧光原位杂交(BAC-FISH)技术绘制了鸡 LBCs 着丝粒区的精细物理图谱^[16], 以上这些工作为利用 LBCs 进行基因组/杂种鉴定、精细遗传/物理图谱绘制、基因定位、转录和转录机制等研究工作奠定了基础。

1.2 灯刷染色体的转录与转录进程

研究表明转录主要发生在 LBCs 的侧环上, 大量的新生转录产物和相关蛋白结合, 形成了光镜下可见的 RNP 基质。每个侧环由 1 至数个转录单位组成, 所以 LBCs 上单个转录单位是可视的, 这使得它们成为在结构和分子水平上研究转录及其调控机制的优异材料^[17]。侧环的类型因 RNP 基质的大小和类型可以大致分为正常的大环型、颗粒型、球型和块状(Lumpy), 它们都是以 30 nm RNP 颗粒为基础逐渐装配而成, 为了探明不同结构的侧环与转录活性的关联, 对典型的侧环如球型侧环利用放射自显影、转录抑制子结合大分子扩散分析技术进行 RNA 合成的分析^[17], 结果表明在这类侧环中, 存在 RNA 的合成; 侧环的延伸与转录活性相关, 活性高的时候, 侧环增大, 活性降低时, 侧环回缩到染色粒中; 有的侧环中存在数个不同外形的转录单元, 这几个转录单位的转录存在速度的差异。用 RNA 前体标记物作为探针进行原位杂交试验, 与大环和颗粒状的

侧环相比, 球型侧环标记的速度和强度均较弱, 推测不同侧环可能具有相异的转录模式, 这个问题有待进一步阐明^[18]。已有的报道表明不同侧环的演化存在关联性, 这同样也可以看作是转录后的调控。电镜实验证明了这些类型的侧环都是由 30 nm RNP 颗粒组成的; 热休克(Thermic shock)实验结果显示在低温处理下, 趋于向高级侧环结构发展, 而在高温处理下, 则趋于向去凝缩方向发展; 免疫实验也证明侧环形态的多样性与特异蛋白存在关联。例如在蝾螈的卵细胞中发现一个 82 kDa 核蛋白, 利用单抗进行原位杂交试验表明可以和所有类型的侧环结合, 但是并不同步。比如, 当球状侧环被强烈标记时, 大环和颗粒环不被标记, 当标记出现在核质中时, 所有类型的环不被标记, 该结果初步证明了特异的蛋白与侧环的结构演变存在关联^[18]。

来自鸟类的实验表明, 侧环中一个转录单位约 1~40 μm , 这些被转录的基因包括了编码基因和非编码基因。一个令人吃惊的事实是一些持家基因在 LBCs 的转录是被抑制的, 比如在鸟类中编码 18S、5.8S 和 28S 的基因簇是没有活性的, 但散布的该类基因仍然可以被 RNA pol II 转录而不是 pol I^[19]。迄今为止, 在两栖类和鸟类 LBCs 的研究中, 发现仅有少数单拷贝基因在此时转录。比如在两栖类 LBCs 中, 已经证实细胞内编码角蛋白(Cytokeratin)、核仁蛋白 NO38/B23、c-myc 和 Egl 的基因是转录的, 并发现了它们的转录产物向核质转移^[20]。基于 DNA/RNA 杂交技术的染色体涂抹技术(Chromosome painting technique)使大规模研究 LBCs 的转录成为可能, 利用改良的该技术 BAC-FISH 发现许多鸟类 LBCs 单拷贝的基因可能是转录的。但问题是 BAC 克隆是大片段插入, 包含了单拷贝和多拷贝的信息, 所以, 要验证更多的单拷贝的表达需要进一步的实验。早期的生化实验证明 LBCs 转录的主要是非编码的串联重复序列^[21], 进一步的调查是利用原位杂交实验证明两栖类 LBCs 转录的主要是一些微卫星序列。值得注意的是来自鸟类的研究结果, 如果出现在侧环中的一个微卫星序列是转录的, 那么侧环临近的染色粒里面的同类微卫星串联簇是不表达的, 这个结果表明存在一种未知的调控机制启动 LBCs 侧环中微卫星 DNA 的转录^[19]。来自热带爪蟾的研

究发现卵母细胞中还储存大量来自 LBCs 转录子的稳定内含子(Stable intronic sequence RNA), 这些内含子一直到囊胚期都可以检测到, 说明在胚胎发育的早期可能发挥重要作用^[22]。关于侧环上转录调控机制的研究, 早期提出了“通读假说”(Read-through hypothesis)^[23], 该假说认为侧环上转录起始于结构基因的启动子序列, 到了该基因的终止序列后并不停留, 而是继续转录下面的非编码序列, 现代遗传学的研究结果否认了该假说。结合基因组和细胞学的证据表明位于鸡 LBCs 侧环微卫星序列中的反转录转座子长末端重复序列(LTR)启动了微卫星序列的转录, 这得到了很多来自两栖类实验的证明。如果这个机制是正确的, 侧环的平均长度应该与活跃的 LTR 启动子的数量呈负相关, 这是今后需要阐明的问题之一。初生的转录产物被与 RNA 成熟相关的蛋白包被, 成为附着于侧环上的 RNP 基质, 这种独特的结构为在活体条件下研究侧环转录产物的处理和机制提供了平台。来自生化的证据表明, 鸟类 LBCs 侧环中多数 RNP 基质含有与 RNA 成熟相关的组件, 如 snRNPs、SC35、hnRNP 和 3'末端处理相关因子。有些 RNP 基质中没有发现 snRNPs 组件, 这可能是由于在相应的微卫星转录产物中缺少典型的剪切位点所致^[19]。

1.3 灯刷染色体的作用

自从发现 LBCs 后科学家一直试图理解发生在侧环上大量且有点随意转录的意义, 很多人认为这种转录或多或少是没有意义的^[20]。Davidson 于 1986 年提出了另一个假说^[24], 他认为发生在 LBCs 上的转录为将来卵母细胞的成熟和胚胎发育提供必要的转录产物, 这一假说越来越为科学家重视。可能存在这种情况, LBCs 上的转录产物在核膜破裂前是隔离的, 当核膜解体后进入了转录后的切割程序, 形成两类成熟的编码和非编码 RNA 分子, 这种现象在 Masi 和 Johnson 研究 LBCs 组蛋白的转录过程中被证实^[25]。据此推测, 成熟编码蛋白质 RNA 分子可以用于在胚胎基因组启动表达之前, 早期胚胎发育所必需蛋白质的合成。至于大量的非编码微卫星序列的命运可以用现代分子生物学的信息来解释。在后生动物中, 编码微卫星序列的 DNA 可以转录形成

dsRNA 前体,成熟后产生 siRNA,这些 siRNA 是形成组成型异染色质所必需的。那么,可以推测,在拥有 LBCs 的动物中,非编码微卫星序列的转录产物同样可以 dsRNA 前体形式储存在卵细胞中,为早期胚胎发育提供 siRNA 以便维持异染色质的稳定,这种假设的前提是要探明微卫星 RNA 产物能否出现在受精之后胚胎发育的过程中^[19]。

值得注意的是拥有典型 LBCs 的生物胚胎发育过程大部分时间是离体发育,这与胎生的哺乳动物在发育环境上存在巨大差异,因此,在这类生物中 LBCs 转录与离体后胚胎发育过程是否存在更密切的关联性是值得深入探讨的。

1.4 灯刷染色体的表观遗传修饰与染色质重塑

通过对两栖类和鸟类灯刷染色体的深入研究,我们基本了解了其整体表观遗传的状态。来自两栖类的研究发现这类染色体中包括染色粒和侧环不但缺少组蛋白 H1,而且组蛋白 H4 都呈高度乙酰化状态,这是典型基因组 DNA 转录活化的特点,实验证明,乙酰化和甲基化修饰组蛋白的尾部都会导致侧环相应状态的改变^[19]。关于对 LBCs 表观遗传修饰的理解一个典型的例子是来自于对 6 种鸟类卵母细胞 LBCs ZW 的研究^[26]。鸟类卵母细胞中性染色体 ZW 是一个仅通过着丝粒处相连的不对称二价体,Z 染色体具有正常的 LBCs 形态,而富含重复序列的 W 则仅形成几个较大的染色粒,含有少量的侧环。进一步的研究发现 W 染色体具备了惰性染色体的特点,比如缺少乙酰化组蛋白 H4,富含组蛋白 H3K9 和 H3K27 的二甲基化,几个大的染色粒都含有大量的异染色质蛋白 1。这些因素共同导致了 W 染色体在鸟类卵母细胞的发育中高度凝缩的状态^[19]。

尽管现在从整体上对 LBCs 的表观修饰有了一定的理解,但对该类染色体的“建立-维持-再凝缩”的机制了解很少。一个重要的事实是在两栖类和鸟类的 LBCs 上,不但缺少组蛋白 H1,而且也未见参与减数分裂染色质凝缩的拓扑异构酶 II。另外一个在维持 LBCs 形态方面发挥重要作用的蛋白是染色体结构维持(Structural maintenance of chromosomes, SMC)蛋白家族,它们参与了黏连(Cohesin)复合体和凝缩(Condensin)复合体的形成。电镜结合免疫实验

证明黏连复合体主要出现在姐妹染色单体两条染色质丝形成的轴上,后者主要在染色粒上发现。这说明,这两种复合体可能对维持 LBCs 的染色粒-侧环结构发挥重要作用^[27]。最新的关于 LBCs 重建的实验来自将人类的精子注射进两栖类动物非洲爪蟾的卵母细胞中,结果发现精子染色体形成了典型的 LBCs 结构,这一方面说明了两栖类动物卵母细胞中含有重塑哺乳动物非活性染色体的所有因素,另一方面也说明哺乳动物卵母细胞染色体的失活并不是永久的遗传或表观遗传机制造成的。这个实验为进一步鉴定染色质重塑相关的顺式和反式作用因子以及解析其机制提供了研究材料^[9]。

2 灯刷染色体应用于遗传学教学的现状与思考

对于遗传学内容的传授离不开优秀的案例,生命科学的飞速发展也使得这些案例的内涵得到了丰富和扩展。以优秀案例开展遗传学教学工作可以将复杂的遗传学知识形象化和简单化,便于教师的讲授和学生的理解与记忆^[3],同样也可以使枯燥的遗传学学习变得妙趣横生。LBCs 就是遗传学的一个优秀经典的案例,但在遗传学教学中出镜偏低。在我们教学所使用戴灼华等编写的《遗传学》课本中,以 LBCs 为案例介绍的内容很少^[28],仅在第二版第二章《遗传的细胞学基础》中,作为一种特殊染色体形态进行了简单介绍,一句“LBCs 是在光学显微镜下直接观察并识别特殊位置上的单个基因转录活性极为理想的材料”让学生对该案例充满了遐想和期待,但本书后面的遗传学内容均没有发现该案例的身影,因此发掘和使用 LBCs 案例应用于遗传教学有十分重要的意义。

2.1 灯刷染色体在遗传学教学中的拓展

以 LBCs 为案例进行相关遗传学内容教学,我们应首先根据高校遗传学的培养目的和教学目标,在学生掌握了一定的细胞、生化和遗传知识的基础上,结合遗传学的进度逐步有序地加以介绍。

在我所教授的遗传学课本中 LBCs 是作为一类特殊的染色体介绍给学生的,除了介绍了一点关于 LBCs 的发现和特点外,缺少更加详细的资料。正是

由于其可视性的特点, 学生除了可以容易地掌握其特殊染色体的特点外, 也可以掌握一般染色体具有的特点。其实, 随着研究的深入, 其涵盖的遗传学知识也越来越多, 形成和维持该特殊染色体的原因也越来越清楚。我们在教学过程中是这样介绍的: 关于 LBCs 结构的认识是随着相关技术的发展而不断深入的。19 世纪末发现 LBCs 并不偶然, 那时的科学家用光学显微镜寻找适合的染色体材料去研究减数分裂和有丝分裂; 随着时代的发展, 科学家发现 LBCs 丰富而富有特色的结构适合细胞图的绘制; 电镜和扫描电镜的发明更推动了 LBCs 结构和染色体组织的认识, 知道了更细微结构的形态, 比如对侧环结构的认识, 发现了侧环结构的复杂性; 免疫学和电镜技术的结合, 使科学家认识到侧环是由最基本的单位 RNP 颗粒组成的, 经过一步步的装配和折叠形成了不同外形特点的侧环; 分子技术、免疫技术和电镜技术的综合运用, 使人们认识到侧环核蛋白体中 RNA 主要是微卫星序列的转录产物, 但也有少量单拷贝的编码序列 RNA。由此引导同学们思考: 既然 LBCs 的 RNP 基质中主要是编码非编码序列微卫星的 RNA, 它的作用究竟是什么呢? 如果同学们已经知道了微卫星序列最终编码的 siRNA 参与了异染色质的形成和维持的话, 自然会想到在 LBCs“再凝缩”阶段可能会发挥作用。关于适合进行细胞图的绘制也可以根据技术的发展逐渐深入: 在仅有光学显微镜的早期, 只能根据大的界标如侧环、染色粒、着丝粒、端粒等进行简单的作图, 用于区分不同的染色体、基因组甚至杂种; 随着电镜技术的发展, 对 LBCs 结构认识更加细致, 可以绘制更加精细的细胞图; 随着染色体涂抹技术的发展, 可以将 DNA 片段定位到 LBCs 不同结构中, 绘制更加实用的物理图, 这将为进行全基因组测序更加全面的认识基因组特点奠定基础。关于 LBCs 形成和维持原因的介绍可以使学生理解和掌握染色质重塑方面的知识。早期在只有光学显微镜的条件下对它的认识一筹莫展, 只能提出假说; 但随着免疫技术和分子生物学技术的运用, 才认识到存在一些事实: LBCs 中组蛋白 H1 缺失, H4 高度乙酰化, 染色粒处富含组蛋白 H3K9 和 H3K27 的二甲基化, 鸟类 W 染色体几个大的染色粒都含有大量的异染色质蛋白 1 等

等。其实这离完全了解其产生机制还有很远的距离。为了让学生直观地掌握转录相关知识, 也可以引入 LBCs 的相关内容。由于单个转录单位可视性的特点, 所以可以直观容易地了解单个转录单位的结构、组成、长度、速率和分子互作等方面的知识。

为了学生更容易地理解 LBCs 相关的遗传学知识, 开设 LBCs 分离和鉴定实验是值得考虑的教学内容。现在国内常用的遗传学实验教材没有这个实验, 国外也少有开展。更加详细的实验程序可以参照相关网站的内容(<http://www.projects.exeter.ac.uk/lampbrush/protocols>)。

2.2 以灯刷染色体为案例开展遗传学教学的优点

作为除了哺乳动物以外广泛存在于昆虫、两栖类、鱼类和鸟类卵母细胞发育中一个经典的染色体结构, 尽管其关注度相比于唾腺染色体和巴氏小体为低, 但其研究历程和由此材料所取得的研究成就加深了人们对染色体结构、染色体组织、转录和转录过程的直观认识, 促进了遗传学的发展。其作为遗传学教学案例有着不可替代的优势: (1) 应用于遗传学实验教学时实验材料便于取得, 分离得到巨大、普通光学显微镜下可视的转录体拥有丰富的染色体结构信息, 通过对经典染色体的分离和鉴定让学生在强烈好奇心的状态下掌握染色体的基本结构和特殊生长发育时期染色体的特点, LBCs 的分离和观察实验的开设, 一方面可以更新陈旧的遗传学实验教学内容, 另一方面经典、容易观察的染色体诱发学生强烈的好奇心, 从而可以激发学生的学习兴趣并转化成学生学习遗传学知识的动力, 提高学生的学习效果和学习成绩^[29]。(2) LBCs 的研究与遗传学发展同步, 涉及到遗传学研究的多个方面。例如: 首先科学家利用 LBCs 拥有巨大和丰富的染色体结构特点, 研究了染色体的基本结构、染色体的组织、并绘制了细胞图, 为不同物种基因组/杂种鉴定、精细物理图谱绘制、基因定位和克隆奠定基础; 利用单个转录子光镜下可视的特点, 探索了单拷贝编码基因和多拷贝非编码基因的转录和转录过程; 利用其在减数分裂过程中逆向染色质重塑的特点, 进行了大量包括表观遗传学染色质重塑机制的研究等等。作为一个经典案例将这些内容应用到遗传学教学中

去, 并指出关于 LBCs 的研究中大量没有解决的问题, 比如 LBCs 染色质重塑机制和功能远未明了, 我们引导学生主动探索 LBCs 形成的原因和功能, 让学生通过查资料和实验设计去形成解决问题的思路。这种经典案例和研究型教学方法的综合运用, 可以激发学生探索未知的兴趣, 从而加深学生对遗传知识的掌握和理解^[30]。

参考文献(References):

- [1] Wang HY. The study of tomato fruit weight quantitative trait locus and its application in genetics teaching. *Hereditas (Beijing)*, 2015, 37(8): 837–844.
王海燕. 番茄果重数量性状基因的研究进展及在遗传学教学中的应用. *遗传*, 2015, 37(8): 837–844. [\[DOI\]](#)
- [2] Li G, Chen FG. Advances in understanding *Drosophila* salivary gland polytene chromosome and its applications in genetics teaching. *Hereditas (Beijing)*, 2015, 37(6): 605–612.
李刚, 陈凡国. 果蝇唾腺多线染色体研究进展及其在遗传学教学中的应用. *遗传*, 2015, 37(6): 605–612. [\[DOI\]](#)
- [3] Pi Y, Li XY, Huai C, Wang SM, Qiao SY, Lu DR. Exploration on human blood type case in teaching practice of genetics. *Hereditas (Beijing)*, 2013, 35(8): 1040–1044.
皮妍, 李晓莹, 怀聪, 王诗铭, 乔守怡, 卢大儒. 以人类血型为遗传学案例教学的思考与实践. *遗传*, 2013, 35(8): 1040–1044. [\[DOI\]](#)
- [4] Macgregor H. So what's so special about these things called lampbrush chromosomes? *Chromosome Res*, 2012, 20(8): 903–904. [\[DOI\]](#)
- [5] Flemming W. Zellsubstanz, Kern- Und Zelltheilung. *Vogel Leipzig*, 1882. [\[DOI\]](#)
- [6] Rückert J. Zur Entwicklungsgeschichte des ovarialeies bei Selachiern. *Anat Anz*, 1892, 7: 107–158. [\[DOI\]](#)
- [7] Dedukh D, Mazepa G, Shabanov D, Rosanov J, Litvinchuk S, Borkin L, Saifitdinova A, Krasikova A. Cytological maps of lampbrush chromosomes of European water frogs (*Pelophylax esculentus* complex) from the Eastern Ukraine. *BMC Genet*, 2013, 14: 26. [\[DOI\]](#)
- [8] Spring H, Scheer U, Franke WW, Trendelenburg MF. Lampbrush-type chromosomes in the primary nucleus of the green alga *Acetabularia mediterranea*. *Chromosoma*, 1975, 50(1): 25–43. [\[DOI\]](#)
- [9] Liu JL, Gall JG. Induction of human lampbrush chromosomes. *Chromosome Res*, 2012, 20(8): 971–978. [\[DOI\]](#)
- [10] Morgan GT. Lampbrush chromosomes and ated bodies: new insights into principles of nuclear structure and function. *Chromosome Res*, 2002, 10(3): 177–200. [\[DOI\]](#)
- [11] Bonnanfant-Jaïs ML, N'Da E, Penrad-Mobayed M, Angelier N. Structure of landmark loop ribonucleoprotein matrices in *Pleurodeles waltlii* lampbrush chromosomes visualized by scanning electron microscopy. *J Cell Sci*, 1986, 81: 29–42. [\[DOI\]](#)
- [12] Snow MHL, Callan HG. Evidence for a polarized movement of the lateral loops of newt lampbrush chromosomes during oogenesis. *J Cell Sci*, 1969, 5(1): 1–25. [\[DOI\]](#)
- [13] Macgregor HC. Recent developments in the study of lampbrush chromosomes. *Hereditas*, 1980, 44: 3–35. [\[DOI\]](#)
- [14] Solovei IV, Joffe BI, Gaginskaya ER, Macgregor HC. Transcription on lampbrush chromosomes of a centromerically localized highly repeated DNA in pigeon (*Columba*) relates to sequence arrangement. *Chromosome Res*, 1996, 4(8): 588–603. [\[DOI\]](#)
- [15] Solovei I, Macgregor HC, Gaginskaya E. Specifically terminal clusters of telomere DNA sequences are transcribed from the C-rich strand on chicken lampbrush chromosomes. In: Brandham PF, Bennett MD, eds. Proc. Kew Chromosome Conference IV. Royal Botanic Gardens: Kew, Press, 1995, 323–330. [\[DOI\]](#)
- [16] Krasikova A, Fukagawa T, Zlotina A. High-resolution mapping and transcriptional activity analysis of chicken centromere sequences on giant lampbrush chromosomes. *Chromosome Res*, 2012, 20(8): 995–1008. [\[DOI\]](#)
- [17] Penrad-Mobayed M, Bonnanfant-Jaïs ML, N'Da E, Angelier N. Evidence for a particular mode of transcription in globular loops of lampbrush chromosomes of the newt *Pleurodeles waltlii*. *Chromosoma*, 1986, 94(5): 319–328. [\[DOI\]](#)
- [18] Angelier N, Bonnanfant-Jais ML, Herberts C, Lautredou N, Moreau N, N'Da E, Penrad-Mobayed M, Rodriguez-Martin ML, Sourrouille P. Chromosomes of amphibian oocytes as a model for gene expression: significance of lampbrush loops. *Int J Dev Biol*, 1990, 34(1): 69–80. [\[DOI\]](#)
- [19] Gaginskaya E, Kulikova T, Krasikova A. Avian lampbrush chromosomes: a powerful tool for exploration of genome expression. *Cytogenet Genome Res*, 2009, 124: 251–267. [\[DOI\]](#)
- [20] Angelier N, Penrad-Mobayed M, Billoud B, Bonnanfant-Jaïs ML, Coumailleau P. What role might lampbrush chromosomes play in maternal gene expression? *Int J Dev Biol*, 1996, 40(4): 645–652. [\[DOI\]](#)
- [21] Davidson EH, Hough BR. Genetic information in oocyte RNA. *J Mol Biol*, 1971, 56(3): 491–506. [\[DOI\]](#)
- [22] Gardner EJ, Nizami ZF, Talbot Jr CC, Gall JG. Stable in-

- tronic sequence RNA (sisRNA), a new class of noncoding RNA from the oocyte nucleus of *Xenopus tropicalis*. *Genes Dev*, 2012, 26: 2550–2559. [DOI]
- [23] Old RW, Callan GH, Gross KW. Localization of histone gene transcripts in newt lampbrush chromosomes by *in situ* hybridization. *J Cell Sci*, 1997, 27: 57–79. [DOI]
- [24] Davidson EH. *Gene Activity in Early Development*. 3rd ed. New York, London: Academic Press, 1986. [DOI]
- [25] Masi T, Johnson AD. Read-through histone transcripts containing 3' adenylate tails are zygotically expressed in *Xenopus* embryos and undergo processing to mature transcripts when introduced into oocyte nuclei. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 304(4): 612–618. [DOI]
- [26] Solovei I, Gaginskaya E, Hutchison N, Macgregor H. Avian sex chromosomes in the lampbrush form: the ZW lampbrush bivalents from six species of bird. *Chromosome Res*, 1993, 1(3): 153–166. [DOI]
- [27] Marko JF. Micromechanical studies of mitotic chromosomes. *Chromosome Res*, 2008, 16(3): 469–497. [DOI]
- [28] Dai ZH, Wang YF, Li YW. *Genetics*. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 2008.
戴灼华, 王亚馥, 栗翼玖. 遗传学(第二版). 北京: 高等教育出版社, 2008. [DOI]
- [29] Xiao JF, Shi CH. Exploration for effective teaching methods to promote students' learning interest in genetics experiment. *Hereditas (Beijing)*, 2014, 36(2): 181–187.
肖建富, 石春海. 激发学生对遗传学实验学习兴趣的教学方法探索. 遗传, 2014, 36(2): 181–187. [DOI]
- [30] Xing WJ, Mo RG, Su HM. An exploration for research-oriented teaching model in biology teaching. *Hereditas (Beijing)*, 2014, 36(7): 732–738.
邢万金, 莫日根, 苏慧敏. 生物学教学中研究型教学方法与内容的探索. 遗传, 2014, 36(7): 732–738. [DOI]

(责任编辑: 陈德富)