

植物染色体图象分析的现状与展望

邓可京 曲志才 沈大棱

(复旦大学遗传研究所 上海 200433)

生物的遗传信息基本上是储存在 DNA 之中的。在间期细胞中这些 DNA 以与蛋白质组成的纤丝状态存在，而在有丝分裂中期，经过几级的卷曲螺旋化凝缩，形成只有 DNA 双螺旋长度 $1/5000-1/10000$ 的高度凝缩的染色体。在任何一种生物的细胞中染色体的数量和形态都是一定的。在普通光学显微镜下染色体是我们观察到的最小的遗传单位。通过染色体的数量及其形态的描述和分析，收集到了许多的遗传信息。对染色体的识别（特别是在形态上的各个染色体的区分），是进行染色体研究的基础。

染色体的形态研究，即核型分析是根据染色体的长度、臂比等来区别各个染色体的。70 年代随着染色技术的不断成熟，染色体的研究，又增加了带型这一指标，即染色体上所显现的染色程度不同的各种带纹。这类带型分析主要是经过如 G 带、N 带、C 带等的显带处理，根据染色体上的各种带型，通过照片进行染色体的识别。这种判别几乎完全依赖于研究者的视觉能力。也就是说只有受过良好的训练，并积累了足够经验的研究者，才可以进行该项工作。即使这样也只能得到定性的分析结果。因此，长期以来，染色体的研究一直希望能取得有质有量的染色体图象分析数据。

图象分析，就是将图象（包括人的视觉所不能观察到的）的特征，如图象的空间位置、光的强度，用一个 2 维的光强函数，即灰度 (grey value) 函数使其数字化，然后通过计算机进行分析。而染色体图象分析是将从显微镜下（或照片）得到的图象，即染色体的特征（如染色体的长度、臂比、带型等）用数字描述后

所进行的分析。它是唯一的将染色体的形态特性进行定量分析的方法。

最早利用仪器如光密度测量仪、电视屏幕显示系统等对染色体进行分析尝试的是在 60 年代。Carlson et al. 和 Mendelsohn et al. 可谓染色体图象分析的先驱者^[1,2]。他们通过测定染色体的光密度来进行染色体的形态分析。后来，细胞学家、显微镜及摄影器材制造商等联合开发了人类染色体分析计算机系统^[3]，这一系统可以自动地对制备好的染色体标本进行查找、分析，但是，在理论与实际应用上仍然存在着差异，单单依赖于常规仪器设备和计算机系统进行分析是不能奏效的。随着电子显微镜和计算机软件的高速发展，Taylor and Graham, Finnon et al. 先后开发了商业性的人类染色体分析系统——Magiscan 和 Cytoscan^[4,5]。以后英法德美日等国推出了一系列的染色体图象分析系统的专用机或专用软件。为染色体的研究和临床医学的染色体诊断提供了方便。Fukui 研究开发了 CHIAS (Chromosome Image Analysis System)，至此才有了一个专供用来进行植物染色体图象分析的系统^[6-8]。

CHIAS 是将一般的计算机分析软件与图象分析软件相结合，所建立的用于植物染色体图象分析的系统。该系统主要是以植物体细胞染色体为研究对象，对其大小及形态特征进行分析，主要有以下五大特点：(1) 以植物染色体为研究对象；(2) 最大程度的将图象分析程序自动化，提高了图象分析的速度；(3) 显微镜自动操作系统引进到 CHIAS 中，节省了显微镜操作的时间。CHIAS 可以对染色体数 $2n$

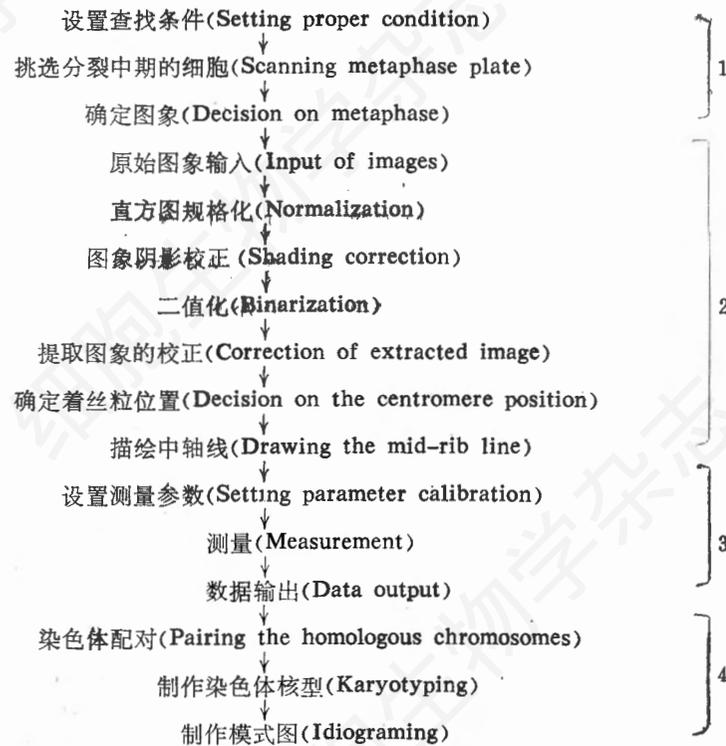


图1 CHAIS系统染色体图象分析流程图

1. 自动查找分裂中期的细胞
2. 收集染色体图象的数据
3. 半自动化地进行核型分析
4. 染色体模式图的制作

= 4 至 120 的植物进行分析, 并且针对植物染色体受细胞壁的影响, 不能完全除去细胞质等问题, 设置了各种处理程序。利用 CHAIS 系统进行植物染色体分析的全过程主要有四个步骤: (1) 自动寻找分裂中期的细胞; (2) 收集染色体图象的数据; (3) 半自动化地进行核型分析; (4) 染色体模式图的制作(图 1)。

染色体图象分析系统的利用, 首先可以大大减少细胞学观察及核型分析所需的时间和劳力。从分裂中期染色体的查找开始到制作出染色体的模式图全过程所需时间仅为 10—20 分钟。与以往的从镜检、拍照、染色体长度的测量, 到核型分析手工操作所需时间相比在速度上是一大飞跃, 其次可以收集到大量高质量的染色体图象的各种数据。除了通常需要的染色体长度及臂比以外, 还可以以染色体的浓缩型(CP; condensation pattern)、G 带、N 带、C 带染色体分染的带型等作为参数, 对各个染

色体进行准确的识别。并且可以为细胞学及染色体研究提供新的信息。图象分析系统中伪彩色(pseudocoloration)可划分 1.6×10^7 等级, 这是人的视觉所不能分辨的。利用伪彩色可将染色体上的细小变化显示出来, 提高人的视觉的分辨率。

不难看出, 图象分析系统在细胞生物学、遗传学和医学领域有着广泛的应用前景。首先, 随着计算机软件技术的不断发展, 将实现对不同物种的染色体识别的自动化。在医学临床上对染色体异常的诊断如正确使用相应的机种和软件, 基本上是可以达到预期目标的。在植物染色体的自动识别上, Kamisugi et al. 在引进了染色体 CP 参数后, 识别水稻各个染色体的准确率达 90% 以上^[9], Bauchan & Campbell 通过伪彩色、边缘增强等处理, 制作出分析困难的二倍体苜蓿(*Medicago sativa* L.) 的核型模式图^[10]。

第二,人的视觉所能观察到的形态、色调、深浅等通过计算机进行收集,将各种具有生物学意义的图象参数可视化。另外,在光学显微镜的各种光学系统下(或各种染色)观察到的图象,可以在图象分析系统上通过各种滤片的处理制作出来。并有可能创造出光学显微镜(或染色)所不能产生的图象。

第三,通过统计处理对原位杂交图象进行分析。原位杂交是目前基因定位的方法之一。但是一些单拷贝,或低拷贝基因由于杂交信号较弱,要确定其在染色体上的位置是困难的。所以往往是需要通过大量的分裂中期的杂交图象的统计分析,来确定杂交信号在染色体上的特殊位置。

第四,对减数分裂时期染色体的分析,特别是粗线期染色体的高分辨率作图也同样是有有效的。我们对水稻小孢子母细胞粗线期染色体进行了图象分析的尝试。小孢子母细胞粗线期染色体上分布有较多的由染色粒组成的带纹,在玉米上是体细胞中期染色体G带的5—6倍^[11]。通过图象分析处理,将染色粒的分布、染色粒的大小及其灰度准确地计算出来,并制作出水稻高分辨率染色粒图。

第五,染色体图象分析与其它关联学科及技术结合,进行染色体加工。如与显微激光技术结合对染色体进行微切割,与PCR(polymerase chain reaction,聚合酶链式反应)技术结合对切割片段进行扩增,可获得染色体上特殊位置的特定DNA序列。

染色体图象分析系统,虽然早在10余年前就已经出现,而且作为医学临床诊断的一种手段已经开始进入实际应用阶段。但是,由于以下原因迄今为止仍不能广泛地被更多的染色体研究人员所利用。(1)价格昂贵:计算机软

件系统和硬件系统目前仍然价格很高,并不是所有的实验室都有能力购买的。(2)人员缺少:各类图象分析系统被迅速地开发,生物学领域内的研究人员缺乏基本的有关图象分析的系统进修,而图象分析系统的软件编写人员又都是以计算机工程为主,所以在使用者与制造者之间常常难以沟通。(3)图象分析系统中各个处理参数设置标准还没有完全确立:人的视觉观察与计算机处理结果的不一致,在图象分析中是常有的现象。尽管图象分析存在着许多有待解决的问题,随着研究人员对染色体分析的再现性、精确度、定量分析等的追求,以及计算机硬件和软件的不断改进,将会越来越广泛地应用于染色体的研究中来。

参 考 文 献

- [1] Carlson, L. et al., 1963, *Exp Cell Res.*, 31: 589—594.
- [2] Medelsohn, M. L., et al., 1966, *Cytogenetics*, 5: 223—242.
- [3] Castleman, K. R. and J. H. Melnyk, 1976, JPL document 5040—30. Jet Propulsion Lab. Calif. Insr. Tech., Pasadena, Calif. USA.
- [4] Taylor, C. J. and J. Graham, 1980, *Anal. Quant. Cytol.*, 2: 237—242.
- [5] Finnon, P., et al., 1986, *Mutat. Res.*, 164: 101—108.
- [6] Fukui, K. 1985, *Cell (Tokyo)*, 17: 145—149.
- [7] Fukui, K. 1986, *Theor. Appl. Genet.*, 72: 27—32.
- [8] Fukui, K. 1988, *Bull. Natl. Inst. Agrobiol. Resour.*, 4: 153—176.
- [9] Kamisugi, Y., et al., 1993, *Chromosome Res.*, 1: 189—196.
- [10] Bauchan, G. R. and T. A. Campbell, 1994, *J. heredity*, 85: 18—22.
- [11] Shen, D-L., and M. Wu 1992, *Chinese J. Genetics.*, 19(2): 103—109.

欢迎订阅本刊(邮发代号 4-296), 脱期漏订可来函
办理邮购。