

研究简报

草鱼、青鱼体外培养细胞的属间、 亚科间核移植*

NUCLEAR TRANSPLANTATION EXPERIMENTS BETWEEN GENERA AND SUB-FAMILIES WITH CULTURED CELLS IN VITRO OF GRASS CARP AND BLACK CARP AS DONORS

张念慈 曹 铮 尹文林 吴乐丁 沈锦玉

(浙江省淡水水产研究所, 湖州)

Zhang Nianci, Cao Zheng, Yin Wenling, Wu Leding and Shen Jingyu

(Freshwater Aquatic Product Institute of Zhejiang Province, Huzhou)

毛树坚 张 铭 杭 绮 赵小立

(杭州大学生物系)

Mao shujian, Zhang Ming, Hang Qi and Zhao Xiaoli

(Biology Department, Hangzhou University)

关键词 核移植, 体外培养细胞

KEYWORDS nuclear transport, cultured cell in vitro

自 King 和 Briggs 1952 年首次报道了细胞核移植在两栖类上获得成功以来^[1], 这项卓绝的技术引起国内外学者的极大重视和兴趣, 并逐渐应用到两栖类以外的其它动物。在我国, 童第周教授等 1963 年首次应用此项技术于鱼类。他们在金鱼和鲫鱼上的开拓性实验, 证明鱼类细胞核同样可以进行核移植^[1]。七十年代起, 我国在鱼类细胞核移植方面的研究得到迅速发展, 并逐渐以理论研究走向实际应用。在鲫、鲤、鲢、草鱼、团头鲂等鱼类上进行研究, 得到了几个不同组合的移核鱼或胚胎, 其中某些移核杂交鱼是可育的^[2-5]。为了进行鱼类遗传改良研究, 作者在草鱼、青鱼、团头鲂上着手进行了细胞核的移植, 利用体外长期培养的体细胞作供体, 在属间和亚科间鱼类上作移核实验, 得到了不同发育期的胚胎。现将此工作作简报报道。

材 料 和 方 法

1. 受体卵 本所实验工场饲养的母青鱼和团头鲂经人工催产后挤出的成熟未受精卵, 去除卵膜后置赫氏液中备用。

* 许谷星同志为本实验提供人工催产的青鱼成熟未受精卵, 特此致谢。

收稿年月: 1989年12月; 1990年5月修改。

2. 供体细胞核 1988年5月间开始原代培养的草鱼胚胎(发育至6~7个体节)细胞, 经过16次传代培养, 到作本实验时已培养378天(代号 CP-88-F16); 1988年6月间开始原代培养的青鱼囊胚细胞, 培养到作移核实验时已360余天, 传至15代(代号 QN-88-F15)。

3. 移核操作过程

(1) 将已去膜的受体卵置于底部铺有琼脂的培养皿中, 皿内盛有赫氏培养液。

(2) 用胰蛋白酶将培养细胞从瓶壁上消化下来, 用赫氏液洗脱消化液后制成细胞悬液, 吸至培养皿中的受体卵周围。

(3) 在解剖镜下用显微操纵仪的玻璃微针吸取细胞, 直接注射入受体卵已开始隆起的动物极胚盘中心。

(4) 手术后的卵置于1/10赫氏液中培养, 观察其发育情况。并照相记录。

实 验 结 果

1. 以青鱼成熟未受精卵作受体, 草鱼 CP-88-F16 细胞作供体, 共移核注射80个卵。获得发育至原肠期胚胎4个, 占5%, 发育至尾芽期胚胎3个, 占3.7%, 发育至出膜前期胚胎(培养32小期, 心跳期后)1个, 占1.25%。该胚胎发育过程比正常受精卵(有性交配)的胚胎发育慢。在24°C水温下, 11小时左右还处于原肠期, 下包速度缓慢, 17小时进入尾芽期, 20小时进入肌肉效应期, 至30小时发育到心跳期, 至32小时胚胎死亡。(图版-1, 2, 3)。

2. 以团头鲂未受精卵作受体, 青鱼囊胚培养细胞(QN-88-F15)作供体, 共移核注射120个卵, 获得发育至体节出现期胚胎6个, 占5%。后胚胎停止发育, 但其中3个坚持到15小时后才死亡。(图版-4, 5)。

讨 论

动物体细胞核移植的研究, 在鱼类上已取得不少成果。自六十年代我国童第周先生等在金鱼、鲫鱼上的开拓性工作以来, 国内鱼类体细胞核移植的研究迅速发展。到八十年代初, 亚科间的鱼类细胞核

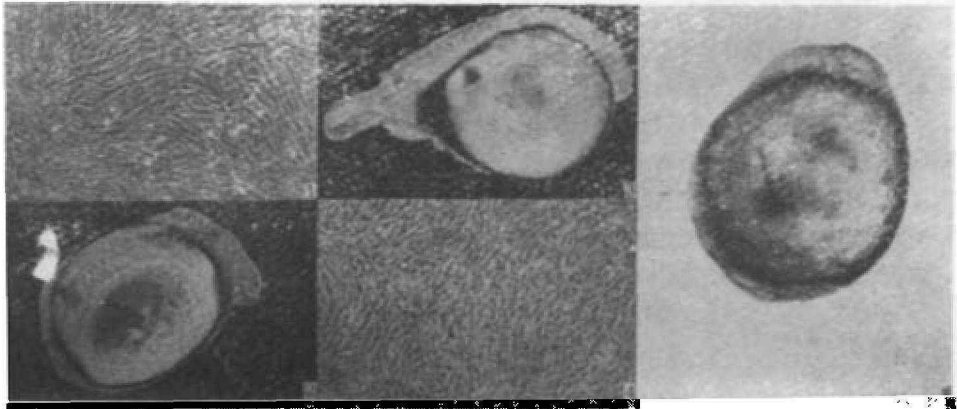


图 版

Plate

1. 草鱼胚胎培养细胞(CP-88-F16)
2. 杂交胚胎(草鱼胚胎培养细胞移核至青鱼未受精卵)发育至耳囊期
3. 杂交胚胎(同图版-2)发育心跳期
4. 青鱼囊胚培养细胞(QN-88-F15)
5. 杂交胚胎(青鱼囊胚培养细胞移核至团头鲂未受精卵)发育至体节出现期

移植(草鱼与团头鲂间)取得巨大成功,获得了性腺能正常发育的雄性杂种鱼^[4]。在上述众多的研究中,所用的移植供体材料多是新鲜的囊胚细胞,这就使移核操纵过程变得复杂,特别在供体和受体的时间配合上存在诸多困难,影响了移核的效率;同时,使某些需在供体上预先作遗传改良的操作难以进行。为此,一些研究者开始从事用体外培养的体细胞作移植供体的研究。在这方面,国内已有一些成功的例子^[6,7]。作者以经过10年体外培养的草鱼 ZC-7901 细胞系,经 UV 诱变而成的抗性细胞作供体,移入青鱼成熟未受精卵中,得到了不同发育期的胚胎和仔鱼(拟另文报道)。本文以在体外培养 378 天传代 16 次的草鱼胚胎细胞作供体,移入青鱼成熟的未受精卵,得到发育至尾芽期胚胎 3 个和心跳期胚胎 1 个;以体外培养 350 天传代 15 次的青鱼囊胚细胞作供体,移至团头鲂的未受精卵中,得 6 个发育至体节出现期的胚胎。这些结果表明,在体外长期培养鱼类体细胞核,经过移植手术进入成熟卵子后,仍保持有多种遗传信息,并能表现出相当强的指导胚胎发育的遗传潜力。

参 考 文 献

- [1] 童中尉等,1963。鱼类细胞核的移植。科学通报,(7):60~61。
- [2] ——,1973。鱼类不同亚科间的细胞核移植。动物学报,19(3):201~22。
- [3] 中国科学院动物研究所细胞遗传研究组等,1980。硬骨鱼类的细胞核移植——鲤鱼细胞核和鲫鱼细胞质配合的杂种鱼。中国科学,(4):373~380。
- [4] 严绍润等,1985。硬骨鱼类的细胞核移植 IVa, 不同亚科间的细胞核移植——由草鱼细胞核和团头鲂细胞质配合而成的核质杂种鱼。生物工程学报,(4):1~11。
- [5] 余宰宁等,1989。用超低温保存的囊胚细胞进行核移植试验。淡水渔业,(4):10~13。
- [6] 陈宏溪等,1986。鱼类培养细胞核发育潜能的研究。水生生物学报,10(1):1~8。
- [7] 陆仁后等,1982。四倍化草鱼细胞株的获得、特性和移核实验的初步试探。遗传学报,9(5):381~387。
- [8] King, T. J. and R. Briggs, 1953. The transplability of nuclei of arrested hybrid blastulae (*R. pipiens* ♀ × *R. catesbeiana* ♂). *J. Exp. Zool.*, 123: 61--78.