

## 不同纲动物间的细胞核移植——将小鼠 细胞核移到泥鳅细胞质中

李书鸿 毛钟荣 韩 文 陈惠萍 严绍颐

(中国科学院发育生物学研究所 北京 100080)

夏仕铃

戴世行

(中国水产科学院珠江水产研究所 广州 510381) (四川省水产学校 合川 631520)

我们以前的细胞核移植工作<sup>[1,2]</sup>表明:移核卵早期胚胎发育模式(主要指卵裂速度及卵裂模式)与受体卵相同,而与供体核种类无关;供体与受体之间亲缘关系的远近及染色体数目的差异程度,对移核卵囊胚以后的发育有重要影响,但对不同组合间细胞核移植所得囊胚比例影响较小。由此我们可以假定,移核卵最初发育的启动及囊胚以前的发育主要与受体卵有关,而和供体与受体之间亲缘关系的远近关系不大。为了进一步验证这一理论并寻找除染色体数目<sup>[2]</sup>以外其它影响移核卵囊胚以后发育的因素,在本实验中,我们选择了小鼠(图版 I -A)和泥鳅(I -B)即不同纲间动物作为细胞核移植的材料。

### 1 材料和方法

#### 1.1 小鼠囊胚细胞的获得,泥鳅受体卵的获得及移植技术

实验所用的小鼠及泥鳅由本所实验动物房提供。小鼠经 HCG 催产,胚胎发育至囊胚期,分离出单个细胞做供体<sup>[3]</sup>。受体泥鳅卵的获得,去核及移植过程与以前报道相同<sup>[4]</sup>。

#### 1.2 组织学分析

移植后 30min 内,每隔 5min 取 5 粒移植卵于 Bouin 液中固定 24h,脱水,透明,包埋,切片(10 $\mu$ )及染色等过程与以前报道的相同<sup>[5]</sup>。观察小鼠囊胚细胞核在泥鳅卵内的发育情况。

### 2 结 果

在 109 个移植卵中,30 个用以组织学分析。剩余 79 粒移植卵中,20 粒(25.3%)发育为囊胚。囊胚只发育到囊胚晚期,不能继续发育到原场。泥鳅卵在接受了小鼠胚胎细胞核后 45min 完成第一次卵裂,75min 结束第二次卵裂,5h 发育到囊胚(图版 I -C~F),其发育模式与泥鳅受精卵的正常发育相同,而与小鼠的发育明显不同。

移植卵的卵裂,经常表现不正常,如分裂沟不明显,分裂球散乱(图版 I -G)。发育到囊胚期后,有些胚胎在形态上完全正常(图版 I -E),但有一些囊胚不正常,表面有细胞脱落(图版 I -F,箭头所示)。正常和不正常的囊胚继续发育,表面细胞脱落严重,直至在囊胚晚期前完全崩溃。这种发育情况与我们以前报道的某些移植卵的发育相似<sup>[1]</sup>。

组织学检查发现,在某些切片有多极纺锤体出现,说明移植卵在其发育过程中有严重的染色体排斥和丢失(图版 I -H,细箭头)。

获国家“七五”攻关基金资助。

收稿日期:1997-04-11,修回日期:1997-12-22。

### 3 讨 论

成熟未受精卵中,储存着大量的与卵裂有关的各种因子,它们可以启动移入动物极的二倍体细胞核的有丝分裂过程,正象它们在受精后启动二倍体合子核的发育<sup>[2,6]</sup>。这种供体细胞二倍体核的种类在移核卵的最初发育(囊胚以前)中是不起作用的。因为移核卵发育为囊胚的比例在不同移核组合中无明显的差异,移核卵的早期发育模式也与受体卵相似<sup>[6]</sup>。在本实验中,小鼠的细胞核移到泥鳅未受精卵内后,移核卵也以与受体泥鳅卵发育相同的模式发育到囊胚期,虽然比例有所下降,但与其它移核组合相比,仍无明显差异<sup>[6]</sup>。说明我们以前所提出的移核卵发育模式同样适于这种不同纲动物间的核移植,即小鼠细胞核做供体,泥鳅卵做受体的组合。

一般认为,在鱼类囊胚期以前的发育中,只有 DNA 的复制,而没有转录活动<sup>[7]</sup>。在转基因鱼的研究中,外源基因在胚胎发育的原肠期以前大量合成,而在原肠以后则快速降解,转录也只在原肠形成以后,即细胞分化开始时进行。因此,虽然实际情况可能要复杂些,我们仍有足够理由认为,在移核中,供体核中的 DNA,在原肠以前大量复制合成,供体核也随受体卵质的卵裂而分裂。因为核内基因并未转录,所以这种供体核的种类一般不会影响移核卵原肠以前的发育,囊胚比例在不同的组合中也无明显差异,正如我们在文中所报道的。

供体核与受体卵亲缘关系的远近,很大程度上影响了移核卵囊胚以后的发育过程。在鱼类中,如果是种间、属间、亚科间的组合,细胞核与细胞质之间的相容性可使移核卵发育为正常个体。科间的组合也能获得移核幼鱼<sup>[6]</sup>。如果是目间的移核,移核卵的发育将可能受到强烈的抑制。如将罗非鱼( $2N=44$ ,鲈形目)的核移到金鱼( $2N=100$ ,鲤形目)的去核卵中,移核卵只能发育到囊胚<sup>[1]</sup>。关于影响核质间相容性的因素目前还不清楚,但是,作为供体核与受体质的两亲本染色体数目的差异是其重要原因之一,即如果染色体数目相差较大,则相容性小,移核卵的发育难以超过原肠期<sup>[1,2]</sup>,如上述罗非鱼( $2N=44$ )与金鱼( $2N=100$ )的组合。但是,同样是目间组合,当染色体数目接近,如将罗非鱼( $2N=44$ )的核移到去核的泥鳅( $2N=48$ )卵中时,移核卵却可以发育为幼鱼<sup>[2]</sup>。进一步来讲,在本实验所进行的纲间移核中,小鼠(哺乳纲, $2N=40$ )和泥鳅(鱼纲, $2N=48$ )染色体数目虽然接近,但移核卵的发育仍难超过囊胚期。说明在亲缘关系最远(纲间)动物的组合中,这种染色体数目的差异,对核质关系的影响并不是唯一的因素。那么,在这种情况下,还有什麼因素影响核质的相容性?

在鱼类远缘杂交中,两亲本胚胎发育速度不同,是导致杂交胚胎中染色体丢失的重要原因,染色体丢失又使杂交胚胎停止发育<sup>[8-10]</sup>。在本实验中,石蜡切片清楚显示,在鼠核移到泥鳅质中后,有多极纺锤体出现,说明有严重的染色体丢失(图 I-H,细箭头)。这种染色体的丢失也应该是由核质之间发育速度上的不同步,形成纺锤体时,微管与小鼠染色体之间不协调造成的。染色体的丢失可能是鼠核——鳅质移核卵不能由囊胚继续发育下去的重要原因之一。关于其他原因需要进一步探讨和证实。

感谢 本实验所需小鼠胚胎细胞由本所邹贤刚和王玉阁提供。

### 参 考 文 献

- 1 Yan S Y, Tu M, Yang H Y *et al.* Int J Dev Biol, 1990, 34: 255~265
- 2 Yan S Y, Mao Z Y, Yang H Y *et al.* Int J Dev Biol, 1991, 35: 429~435
- 3 沈三兵, 杜 鑫, 陆德裕等. 实验生物学报, 1988, 21(2): 186~199
- 4 Yan S Y. In: George M. Malacinski ed Cytoplasm Organization System. McGraw-Hill Pub. Co., New York, 1989, pp. 61~81
- 5 Li S H, Yi Y L, Chen H K. *et al.* Dev Rep Biol, 1993, 2(1): 51~61
- 6 李书鸿. 见: 陈吉龙, 马海飞主编. 发育生物学进展, 北京: 高等教育出版社. 1994, pp. 194~207

- 7 Kane D A, Kimmel C B *et al.* Development, 1993, 119:447~456  
8 叶玉珍, 吴清江, 陈荣德. 水生生物学报, 1989, 13(3):234~239  
9 桂建芳, 梁绍昌, 孙建民等. 水生生物学报, 1990, 14(4):336~344  
10 桂建芳, 梁绍昌, 朱蓝菲等. 动物学研究, 1993, 14(2):171~177

## Nuclear Transplantation Between Animals of Different Classes--the Combination of the Nucleus of Mouse and the Cytoplasm of Loach

Li Shuhong Mao Zhongrong Han Wen Chen Huiping Yan Shaoyi  
(*Institute of Developmental Biology, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080*)

Xia Shiling

(*Zhujiang Fishery Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510381*)

Dai Shixing

(*Sichuan College of Fishery, Hechuan 631520*)

**Abstract** The nucleus of a blastula cell from mouse (*Mus musculus albula*, class mammalia,  $2N=40$ ) was transplanted into an enucleated egg of loach (*Paramisgurnus dabryanus*, class pisces,  $2N=48$ ). Of 79 nucleo-cytoplasmic hybrid (NCH) eggs, 20 (25.3%) developed to blastula, but no gastrula was obtained. Developmental incompatibility between donor nucleus and recipient cytoplasm existed, which was expressed by the formation of multispindles. The multispindle was proposed to result in chromosome exclusion in the NCH egg. Such chromosome exclusion might be an important reason for the abnormal development of NCH egg and the cessation of the further development of NCH blastula in this mouse-donor and loach-recipient combination.

**Key words** Nuclear transplantation, mouse, loach

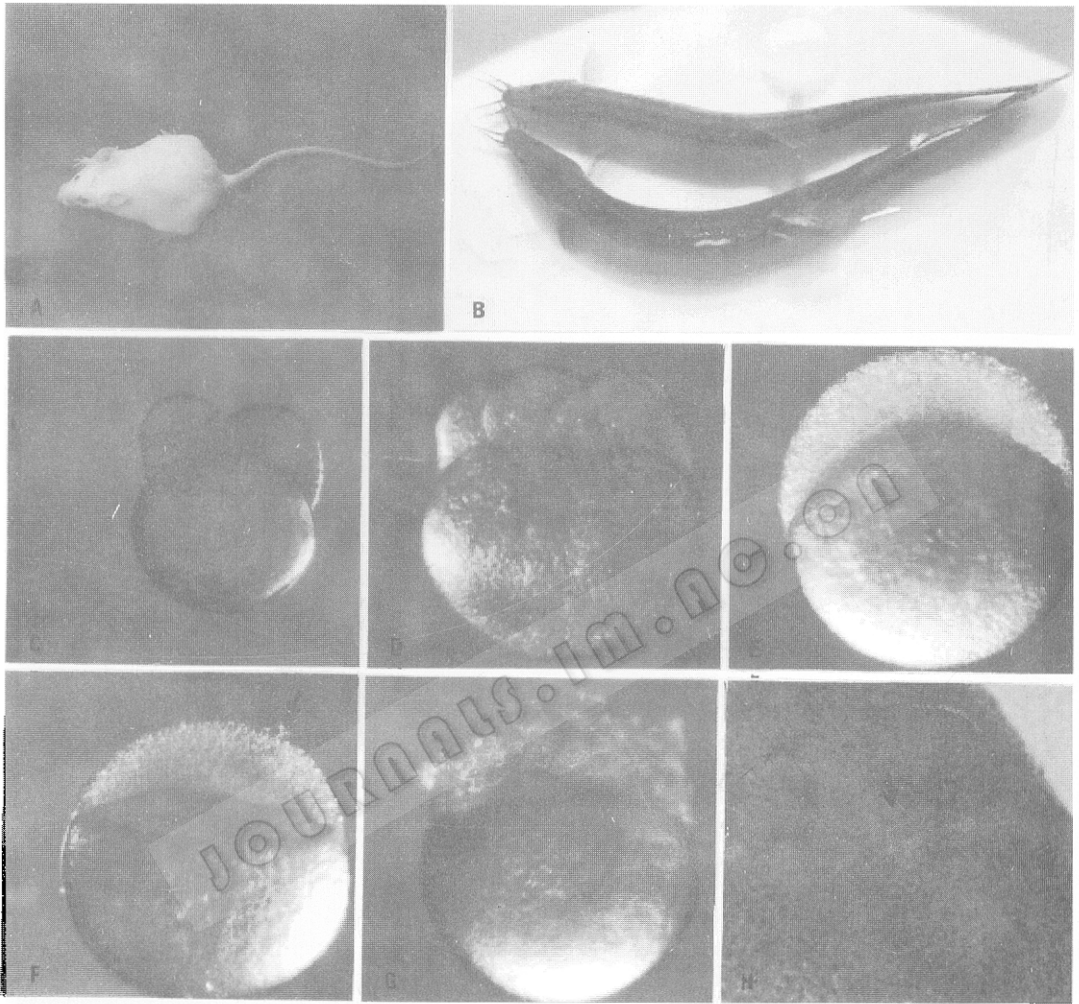


图 I 小鼠与泥鳅之间的细胞核移植, 移核材料及移核卵的发育

- A. 用作移核的小鼠, 其胚胎的囊胚细胞作供体
- B. 用作移核的泥鳅, 其成熟未受精卵作受体
- C. 2 细胞期的移核胚胎
- D. 4 细胞期的移核胚胎
- E. 由移核卵发育来的囊胚(正常)
- F. 由移核卵发育来的囊胚(有细胞脱落, 箭头所示)
- G. 移核卵的分裂(不正常), 细胞散乱
- H. 小鼠囊胚细胞在泥鳅卵中发育形成有丝分裂三极纺锤体, 细箭头示被排斥的染色体