



## 用微细胞技术转移鱼类遗传因子初报\*

陆仁后 陈尚萍 魏彦章

(中国科学院水生生物研究所, 武汉)

### A PRELIMINARY REPORT ON MICROCELL-MEDIATED GENETIC FACTORS TRANSFER IN FISH

Lu Renhou Chen Shangping and Wei Yanzhang

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan)

**关键词** 微细胞, 遗传因子转移

**Key words** microcell, genetic factors transfer

自 Ege 等 (1974)<sup>[1]</sup> 的工作开始, 在 70 年代已逐步建立起一种通过微细胞把一个细胞的染色体转移到另一个细胞中, 并作为在杂种细胞里起作用的遗传因素, 永远地保留下去的技术。

后来, Illmensee 等 (1978)<sup>[2]</sup> 把带有一个人类染色体的小鼠细胞注射到小鼠胚泡腔中, 当该胚泡发育成个体后, 在一些组织中测出了人类特有的蛋白质。

Ojima 等 (1986)<sup>[3]</sup> 首先报道了把鱼类微细胞与哺乳类细胞融合, 研究鱼类基因定位的工作。

本工作是通过把鲫微细胞注射到透明金鱼受精卵(单胞期), 从而把鲫的遗传因子转移到透明金鱼的试验。

#### 材料和方 法

1. **材料来源:** 制作微细胞的鲫细胞系为 CAB-80, 其染色体数的中心趋向为 160—178<sup>[4]</sup>。1985 年使用的透明金鱼是购买的, 1987 年使用的透明金鱼是经二代选育的个体。几年采用的大鳞副泥鳅都是购买的。

2. **微细胞制作:** 综合参考 Fournier (1982)<sup>[5]</sup>

和 Crenshaw & Murrell (1982)<sup>[6]</sup> 所总结的方法, 根据我们的实验条件, 经一系列试验得出较好的微细胞制作条件。即诱变微核化的秋水仙胺浓度为 0.2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 处理时间 24 小时, 随后以 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  松胞素 B 处理 2—8 小时; 去核处理: 松胞素 B 处理浓度 8  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 以 4000rpm 离心 1.5 小时或吸管吹吸; 微细胞分离纯化按 Fournier 等 (1977a)<sup>[7]</sup> 方法和在解剖镜下选择分离。

3. **微细胞转移:** 采用童第周等 (1965<sup>[8]</sup>) 发展的鱼类细胞核移植方法。

#### 结果与讨论

1985 年春做了一批微细胞转移, 受体长大后有一尾尾部和身体上出现一些灰黑色斑点和鳞片以及部分反光层。在另一尾颌唇部有 1 约 0.5mm 直径的小黑点, 其它部位均为纯透明金鱼特征。这两尾正好为雌雄 1 对。1986 年繁殖出的后代中出现红、黑色素斑和部分反光层。1986 年曾把鲫微细胞注射到大鳞副泥鳅受精卵内, 在尾芽期和幼

\* 本工作由中国科学院科学基金资助。  
1987 年 6 月 29 日收到。

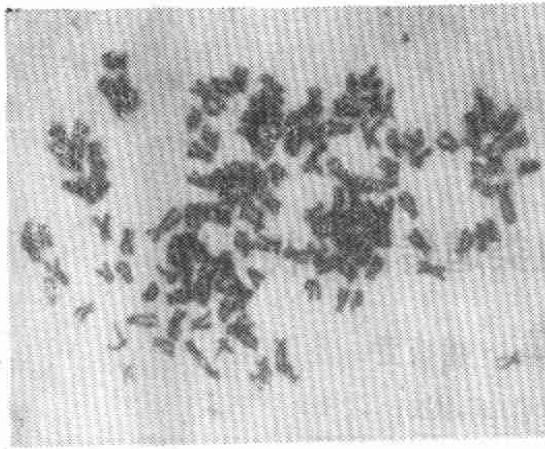


图1 转移鲫微细胞后透明金鱼的染色体中期分裂相(苗期)

Fig. 1 A metaphase of the Calico microinjected with a microcell of wild goldfish (fry).

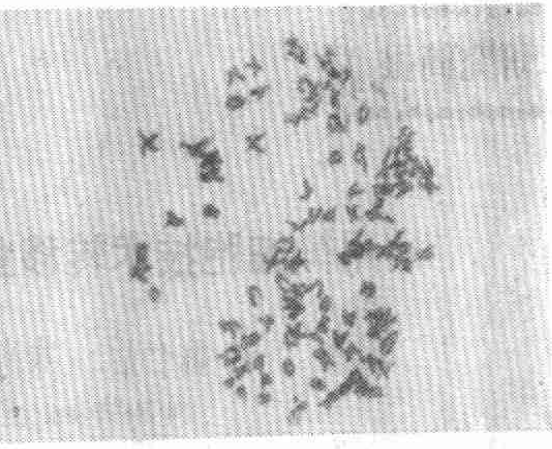


图2 对照透明金鱼的染色体中期分裂相(苗期)

Fig. 2 A metaphase of the Calico control (fry).

苗期杀死检查染色体, 实验组均出现染色体明显超过49个的现象(据李康等, 1983<sup>[1]</sup>报道, 大鳞副泥鳅染色体数为48和49二种类型), 最多达60余个, 而对照组分裂相除一例有51个染色体外, 均未超过49个。

由于考虑到1985年所得到的结果, 尚难确定是否由所采用的透明金鱼亲本纯度不够所致, 所以于1987年5月10日, 精心挑选了2对经过两代选育的透明金鱼作亲本, 重复1985年工作。6月11日检查发现, 在存活的19尾实验鱼中, 有5尾在不同部位或多或少出现反光层, 具反光层个体占总数的26.3%。同批受精、去膜的对照鱼均无反光层出现。此外, 由同批未去膜受精卵发育成的89尾鱼种中, 仅一尾出现反光层(腹部一小块), 仅占1.1%。在幼苗期检查染色体的结果是: 实验组出现染色体明显增多现象约135个染色体(图1), 而对照组则未见超过“种”的标准数(图2)。用同批透明金鱼卵以野鲫精液授精, 共获仔鱼68尾, 其中66尾(96.3%)在不同部位或多或少出现反光层。

由此可见: 1) 透明金鱼无反光层的遗传特性与野鲫有反光层的特性互为相对显性(或不完全显性); 2) 经微细胞转移到受精卵的外源染色体, 至少在苗期仍可被保留; 3) 根据上述二点和实验组透明金鱼反光层出现率大大增加(约为对照组的25倍)的事实, 说明通过微细胞转移, 可以把鲫的遗传因子导入透明金鱼卵, 并在发育过程

中表达出来。

### 参 考 文 献

- [1] 李康, 李渝成, 周敏, 1983. 两种泥鳅染色体组型的比较研究. *动物学研究*, 4(1): 75—82.
- [2] 陈敏容, 陈宏溪, 易咏兰, 1985. 鲫鱼异倍体细胞系的建立及生物学特性. *水产学报*, 9(2): 121—130.
- [3] Crenshaw, A. H. and Murrell, L. R., 1982. Techniques in somatic cell genetics, 291—305. Edited by Jerry W. Shay. Plenum.
- [4] Ege, T. and Ringertz, N. R., 1974. Preparation of microcells by enucleation of micronucleate cells. *Exp. Cell Res.*, 87: 378—382.
- [5] Fournier, R. E. K. and Riddle, F. H., 1977. Microcell-mediated transfer of murine chromosomes into mouse, chinese hamster and human somatic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74: 319—323.
- [6] Fournier, R. E. K., 1982. Techniques in somatic cell genetics. 309—325. Edited by Jerry W. Shay. Plenum.
- [7] Illmensee, K., Hoppe, P. C. and Croce, C. M., 1978. Chimeric mice derived from human-mouse hybrid cells. *Proc. Natl. Acad. U. S. A.* 75(4): 1914—1918. En. EN.
- [8] Ojima, Y., Takarada, Y. and Takai, A., 1986. Microcell-mediated transfer of fish chromosomes into mouse cells. *Proc. Japan. Acad.* 62, Ser., B(3): 91—94.
- [9] Tung, T. C., Wu, S. C., Tung, Y. Y. F., Yan, S. Y., Tu, M. and Lu, T. Y., 1965. Nuclear transplantation in fishes. *Scientia Sinica*. 14: 1244—1245.