

我国的鱼类细胞核移植*

NUCLEAR TRANSPLANTATION IN FISH IN CHINA

李 荔¹ 张士瑾¹ 王洪海² 张福玲²(¹ 青岛海洋大学海洋生命学院 266003)(² 威海市海珍品养殖总公司 264201)

鱼类作为水产养殖业的一大支柱品种,其良种培育对提高鱼类产量至关重要。我国是鱼类养殖历史最悠久的国家之一,向来重视应用生物技术对养殖品种进行改良,其中最好的例子之一就是利用细胞核移植技术来创造鱼类优良品种。即使在生物技术不断发展的今天,这一细胞核移植技术在鱼类新品种培育方面仍是一项很有潜在应用价值的技术。特别是把细胞核移植技术与现代生物技术相结合,有望创造出具有巨大经济价值的鱼类新品种。

1 我国鱼类细胞核移植的成果

细胞核移植是一种应用精细的显微操作,将一种动物的细胞核移植到同种或异种动物的去核成熟卵子胞质中的技术。该技术起初是为了通过对细胞核移植胚胎或后代各种性状的分析,来研究细胞核和胞质的作用、两者间的相互关系以及细胞分化和全能性方面的理论问题。但是,随着鱼类细胞核移植有性后代的产生,该技术被用来生产核质杂交动物,它可以克服远缘有性杂交后代不育的遗传屏障,在水产养殖和畜牧业生产中有着极大的应用价值。

我国已故著名生物学家童第

周教授及其合作者,早在 60 年代初就开始把核移植技术运用到硬骨鱼类,它不但在细胞核、质关系的理论研究,而且在创造有经济价值的细胞工程鱼(如鲤鲫移核鱼、草团移核鱼)中发挥了重要作用,使鱼类细胞核移植技术逐渐发展成为一项重要的生物技术。迄今有关鱼类细胞核移植的报道主要集中在我国,国外只有前苏联学者 Gasaryan, K. G. 1979 年和日本学者^[4]的两篇报道。我国科研工作者已在鱼类种内不同品种间、属间、亚科间、科间、目间,甚至纲间(哺乳纲与鱼纲)进行了细胞核移植实验,涉及到十几个组合(见表 1 和表 2),有些组合获得了成鱼(种内品种间、属间和亚科间),有些组合获得了幼鱼(亚科间、科间和目间),有些组合只获得了移核早期胚胎(目间和纲间)。到目前为止,我国科研工作者已在 2 个种内组合、2 个属间组合和 1 个亚科间组合获得了移核成鱼。

1.1 种内组合

金鱼 (*Carassius auratus*, $2n = 100$) 细胞 + 金鱼 (*Carassius auratus*, $2n = 100$) 去核卵。吴尚勤等 1980 年用红龙睛、红鲫鱼和蛋鱼这 3 个具有不同遗传性状的金鱼品系为材料,用连续移植的方法进行核质配合,来观察在较长时间的影响下,

细胞质和细胞核各自对性状分化的影响以及它们两者之间的相互作用。经过这样配合获得的胚胎,不仅可以正常发育而且可达到性成熟并可繁殖后代。

第 1 次核质配合的个体其性状特征基本像核供体品种。但第 2 代核移植的个体的性状特征,表现出了胞质受体的部分特性,如尾鳍形状等。通过连续多代核移植,细胞质的影响作用不断加强。她们的实验说明,细胞质的影响不仅使表型性状改变了,而且还能传给下一代,可见这种影响是可以积累的。

鲫鱼 (*Carassius auratus*, 野生型, $2n = 100$) 细胞核 + 金鱼 (*Carassius auratus*, 家养型, $2n = 100$) 去核卵。童第周和严绍颐等 1985 年进行了鲫鱼囊胚细胞核移入金鱼去核胞质的核移植实验,分别有 48.7%, 29.5% 和 2.7% 的移核卵发育到囊胚、原肠胚以及成鱼。这种移核杂种成鱼可达到性成熟并繁殖后代。通过对移核成鱼形态学观察以及生化检测发现:(1) 出特异性。从以上结果可以看出,鲫鱼核 + 金鱼质所得的杂种鱼的

* 国家海洋 863 计划资助项目 819 -

04 - 06 号。

收稿日期:2000 - 12 - 13;

修回日期:2001 - 01 - 02

表 1 鱼类囊胚细胞核移植及其受体发育

供体	受体	组合类型	受体发育至	资料来源
金鱼	金鱼	种内	成鱼	吴尚勤等 1980 年
鲫鱼	金鱼	种内	成鱼	童第周等 1985 年
青鳉	青鳉	种内	成鱼	Niwa, K. 等 ^[4]
泥鳅	泥鳅	种内	幼鱼	Gasaryan, K. G. 1979 年
斑马鱼	斑马鱼	种内	幼鱼	李荔等 ^[1]
鲤鱼	鲫鱼	属间	成鱼	童第周等 1980 年
鲫鱼	鲤鱼	属间	成鱼	严绍颐等 1984 年
草鱼	团头鲂	亚科间	成鱼	严绍颐等 1985 年;余来宁等 1989 年
金鱼	鳊鱼	亚科间	幼鱼	童第周等 1973 年
鳊鱼	金鱼	亚科间	幼鱼	童第周等 1973 年
鲢鱼	团头鲂	亚科间	幼鱼	余来宁等 1989 年
草鱼	鲤鱼	亚科间	幼鱼	齐福印等 1992 年
鳙鱼	团头鲂	亚科间	幼鱼	许桂珍等 ^[2]
金鱼	大鳞副泥鳅	科间	幼鱼	严绍颐等 1990 年
泥鳅	金鱼	科间	幼鱼	严绍颐等 1990 年
斑马鱼	大鳞副泥鳅	科间	幼鱼	严绍颐等 1993 年
罗非鱼	鲤鱼	目间	幼鱼	严绍颐等 1989 年
罗非鱼	大鳞副泥鳅	目间	幼鱼	严绍颐等 1991 年
罗非鱼	金鱼	目间	囊胚	严绍颐等 1990 年;余来宁等 1989 年
小鼠	大鳞副泥鳅	纲间	囊胚	李书鸿等 ^[3]

表 2 鱼类体细胞核或培养细胞核移植及其受体发育

供体	受体	组合类型	受体发育至	资料来源
鲤鱼红细胞核	金鱼	属间	成体	吴尚勤等 1982 年
培养草鱼尾鳍四倍化细胞	草鱼	种内	囊胚期 ¹	陆仁后等 1982 年
培养草鱼尾鳍四倍化细胞	泥鳅	科间	心跳期 ¹ 肌肉效应期 ²	陆仁后等 1982 年
鲫鱼囊胚继代培养细胞	鲫鱼	种内	原肠期 ¹ 成鱼 ²	陈宏溪等 1986 年
鲫鱼肾短期培养细胞	鲫鱼	种内	囊胚期 ¹ 成鱼 ²	陈宏溪等 1986 年
金鱼肾短期培养细胞	鲫鱼	种内	幼胚 ¹ 仔鱼 ²	陈宏溪等 1986 年
草鱼培养胚胎细胞	青鱼	属间	心跳期	张念慈等 1990 年
青鱼囊胚培养细胞	团头鲂	亚科间	体节出现期	张念慈等 1990 年
草鱼头肾细胞	鲤鱼	亚科间	原肠期 ¹ 胚孔封闭期 ²	齐福印等 1992 年
鲫鱼头肾细胞	鲤鱼	属间	原肠期 ¹ 血液循环期 ²	林礼堂等 1996 年
鲢鱼头肾细胞	鲤鱼	亚科间	原肠期 ¹ 心跳期 ²	林礼堂等 1996 年
尼罗非鲫头肾细胞	鲤鱼	目间	原肠期 ¹ 肌肉效应期 ²	林礼堂等 1996 年

注:1 表示原代核移植;2 表示继代核移植。

核质杂种鱼的体色与鲫鱼相似表现出核供体类型。(2) 侧线鳞的数目在鲫鱼的范围之内。(3) 脊椎骨的数目在两亲本范围之内。(4) 体长/尾鳍与鲫鱼相似。(5) 红细胞 LDH 同工酶与 G6PDH 同工酶表现的一些特征不确定, LDH 和

G6PDH 同工酶表现出的差异可能来自于细胞核和细胞质的相互作用。

1.2 属间组合

鲤鱼 (*Cyprinus carpio* , 鲤属 , 2 *n* = 100) 细胞核 + 鲫鱼 (*Carassius auratus* , 鲫属 , 2 *n* = 100) 去核卵。童

第周等 1980 年和严绍颐等 1985 年进行的将鲤鱼囊胚细胞核移入鲫鱼去核卵子胞质中的实验, 分别获得 3.2% 和 2.0% 的移核杂种成鱼。这种组合的核质杂种鱼到了成鱼阶段, 性状特征基本上很一致, 表现为: (1) 核质杂种鱼的大多数

形态特征与核供体(鲤鱼)相似,如有一对口须,咽喉齿为白形。(2)有些特征似乎受到胞质受体(鲫鱼)的影响,如脊椎骨的数目为 $4+26\sim 30$ (鲤鱼为 $4+32\sim 36$)。(3)有一些特征如侧线鳞片的数目为 $32\sim 36$ (鲤鱼为 $35\sim 38$,鲫鱼为 $28\sim 30$),比鲫鱼的多比鲤鱼的少,介乎两者之间而较接近于鲤鱼。(4)一些特征与核和质均有不同,如鳔的形状以及血红细胞的LDH和MDH同工酶谱。(5)核质杂种鱼表型的改变似乎是由于移核卵中细胞核与细胞质相互作用的结果。

鲤鲫核质杂种鱼能够发育为性成熟的雄鱼和雌鱼,均有正常繁殖后代的能力。其后代的生长速度比鲤鱼快22%,肌肉蛋白质含量比鲤鱼高3.78%而脂肪含量却比鲤鱼低5.8%。这种鲤鲫移核鱼已繁殖了5代,后代鱼保持了移核鱼的主要形态特征,现已大面积推广养殖。鲫鱼(*Carassius auratus*, 鲫属, $2n=100$)细胞核+鲤鱼(*Cyprinus carpio*, 鲤属, $2n=100$)去核卵。严绍颐等1984年将鲫鱼囊胚细胞核移植到鲤鱼去核卵子中,有13.2%的移核卵发育到原肠胚,有0.98%的移核卵发育到成鱼。

从观察到的形态特征来看,不论在口须、咽喉齿、侧线鳞片数目和脊椎骨数目等方面,基本上与核供体鱼(鲫鱼)的性状相似。这种杂种鱼已能饲养到性成熟阶段,但由于管理不当死亡或丢失,没能得到该组合杂种鱼的后代。

1.3 亚科间组合

草鱼(*Ctenopharyngodon idella*, 雅罗鱼亚科, $2n=48$)细胞核+

团头鲂(*Megalobrama amblycephala*, 亚科, $2n=48$)去核卵。严绍颐等1984年,1985年将草鱼的囊胚细胞核移到团头鲂卵子的胞质中。有3.6%的移核卵发育为成鱼。这些核质杂种鱼的若干形态特征如体长/头长、体长/体高、体长/体宽、背鳍硬刺、腹棱、臀鳍条数、鳃耙数、咽喉齿、侧线鳞片数和脊椎骨数等,都与核供体草鱼相似。这表明此核质杂种鱼的特征受草鱼细胞核的影响。核型检查发现核质杂种鱼的核型确实与草鱼一致。血清蛋白分析还表明,与草鱼和团头鲂相比,移核鱼均有新的血清蛋白出现,这可能是由于受体胞质影响了供体核的基因表达所致。

对该组合的核质杂种鱼的初步观察表明:杂种鱼的生长速度明显比团头鲂快,也稍优于一般报道的草鱼的生长速度,没有发现在这些杂种鱼中有像草鱼那样往往因感染疾病而死亡的现象。已有1尾雄性核质杂种鱼成熟并能产生正常的精子使草鱼卵子受精。

2 核移植与现代生物技术的结合

2.1 核移植与细胞融合方法的结合

将具有优良性状的鱼类胚胎细胞或体细胞用生物学、化学或物理学的方法进行两个细胞的融合,将所得到的四倍体细胞作为供体核进行细胞核移植,这样就会产生具有供体优良性状的四倍体鱼作为亲本与二倍体进行有性繁殖,将

会得到性腺不育的、生长迅速的三倍体鱼类,从而提高鱼类养殖的产量和肉质。

2.2 核移植与细胞培养和基因转移技术的结合

将目的基因转到培养细胞中,再将具有目的基因的细胞筛选出来,用做核供体进行细胞核移植,这样就会获得含有目的基因的鱼类新品种。

2.3 核移植与冷冻技术的结合

在进行核移植时,往往会碰到供体或受体不能保证同时供给的问题,如果将准备好的供体进行冷冻保存,到有受体卵时再进行复苏,则会保证实验的顺利进行。

3 小结

我国在鱼类的细胞核移植方面处于国际领先水平,它为我国鱼类新品种的培育做出过应有的贡献。但是,随着新的生物工程育种技术的不断诞生,该技术已不能局限在以往的阶段,它必须与现有的实用技术相结合,才能发挥更大的作用,创造出人们需要的鱼类优良品种。

参考文献

- 1 李荔 张士瑾 王锐等.高技术通讯, 2000, 10(7): 24~27
- 2 许桂珍 齐福印 王思珍.生物技术, 1997, 7(1): 13~16
- 3 李书鸿 毛钟荣 韩文等.生物工程学报, 1998, 14(3): 345~347
- 4 Nwa K., Lady T. et al.. Dev. Gen. Diff., 1999, 41: 163~172

(本文编辑:刘珊珊)