中 国 科 学
1982 年 4 月　　B 辑　　第 4 期

中胚层诱导物质处理后细胞核的超微观察

曾 弥 白*
（中国科学院上海细胞生物学研究所）

摘　要

本文证明蝾螈原肠早期的预定外胚层经中胚层诱导物质（豚鼠骨髓抽提液）处理后，细胞核的超微结构出现了变化．对照组细胞核中体积较大的、浓缩的染色质团块不再存在，而是出现比较小而疏散的团块，以至分散的染色质纤维．这可能代表染色质松散的过程．结合以往缺钙处理引起神经诱导的观察，认为这种异染色质向常染色质的转变应该是诱导刺激引起细胞分化的征兆．

蝾螈早期原肠胚的预定外胚层，在不同的诱导刺激下，可以表现不同的分化．例如，在中胚层诱导物质——豚鼠骨髓[1]的作用下，会分化为脊索、肌肉、原肾和血球等中胚层结构．过去的研究，主要集中在两个方面：（1）研究诱导者的性质，根据用诱导物质处理过的外胚层培养一定时间后的最后产物，判断诱导物质的专一性．（2）研究外胚层细胞反应能力的变化，包括在原肠形成过程中的变化．外胚层细胞在诱导过程中，所发生的超微结构的变化，只有很少的报道[2—4]；至于立即在诱导刺激之后所发生的早期变化，就更没有受到重视．研究这样重要的环节，对于了解诱导物质的作用，以及细胞分化的发动都会提供一定的线索．下面将报道我们用电子显微镜初步观察到的中胚层诱导物质处理后细胞核的早期变化．

一、材料和方法

实验材料是在东方蝾螈（*Cynops orientalis*）早期原肠胚的预定外胚层．实验组用浸泡法[5]，在豚鼠骨髓抽提液中处理．抽提液是取豚鼠大腿骨髓，用 Holtfreter 溶液匀浆，离心（4,000 rpm，30 分钟）2 次，配制成蛋白质浓度为 3,000 微克/毫升．实验共两组：（1）处理 12 小时；（2）处理后移入 Holtfreter 溶液，继续培养 12 小时．对照分两组：（1）与实验组时期相当，不经处理的预定外胚层，也就是从原肠早期割取预定外胚层，在 Holtfreter 溶液中分别培养 12 和 24 小时；（2）为了检测高浓度蛋白质溶液对超微结构有无影响，用相同浓度的小牛血清白蛋白溶液（BSA，3,000 微克/毫升）处理预定外胚层12小时．4 组材料均用 *M*/15 磷酸缓冲液（pH 7.4）配制的 2.5% 戊二醛固定 1 小时，磷酸缓冲液换洗几次后，再用 2% 锇酸固定 1 小时，经酒精、丙酮脱水，Epon 812 包埋，切片经醋酸铀和柠檬酸铅染色，用 JEM-100B 电子显微镜观察．

在诱导实验中，各个外植块诱导形成的结构不会完全一样．为了保证供电子显微镜观察

本文 1981 年 8 月 24 日收到．
* 周美云协助电子显微镜工作，徐济华参加部分技术操作．

的材料尽可能一致，实验两组取样都是在固定时将外植块对半分开，一半立即固定包埋，供以后选用；另一半继续培养，14 天后用 Bouin 氏液固定，石蜡包埋切片，硼砂洋红整染后，再用苦味酸-蓝黑复染，作光镜检查．选出外植块全部或大部份分化为肌肉和脊索等中胚层结构的，用它们的另一半进行电子显微镜观察．这样就基本上保证了在电子显微镜下观察到的细胞是受到诱导物质的作用，在以后的培养中将分化为中胚层结构．

二、结果和讨论

对照组，外植块不经处理，分离培养 12 小时和 24 小时的一样，在外胚层细胞的核中，普遍地可以看到相当大而比较浓缩的异染色质团块，它们常常位于核膜内侧和核仁周围（图版 I，1）．用 BSA 处理过的外胚层细胞的核，和对照组的没有区别．这样浓度的 BSA 是没有诱导作用的（未发表资料），可见，高浓度而没有作用的蛋白质溶液的处理，对于细胞核的处理没有影响．

实验组，根据半个外植块培养 14 天后的分化情况，在组 1，从 23 个外植块中选用了 13 个，在组 2，从 11 个中选择了 8 个进行电子显微镜观察．细胞核的超显微变化大致可以分为两类：（1）浓缩的异染色质团块，不像对照组那么大而集中，而是分散为较小的团块，混杂在分散的细丝和颗粒中（图版 I，2）．核仁周围往往也不再看到浓缩的染色质，在附近可以看到一些较小而散在的染色质团块（图版 II，3）．（2）细胞核显得比较均质，除了个别较小的染色质团块，几乎完全是分散的细丝和颗粒（图版 II，4）．

在组 1，观察的 13 个外植块的细胞核大多数属于第（1）类，达到第（2）类的是少数．在组 2，处理后换到 Holtfreter 溶液继续培养 12 小时，也就是恢复 12 小时以后，绝大多数外植块的细胞核的变化是属于第（2）类，少数是第（1）类，而且染色质团块都比较小．

比较对照组和实验组，可以看到，实验组细胞核的变化不是因高浓度蛋白质溶液的处理，而是因诱导物质的作用而引起的．

比较实验组 1 和组 2 的观察结果，可以认为，这两类变化正代表了染色质由浓缩到松散的连续过程．外胚层细胞经过骨髓抽提液处理以后，细胞核中原有的浓缩染色质团块逐渐分散，由较大的变为较小的，直到几乎完全松散为散在的细丝．在组 2，浓缩染色质团块分散的程度比组 1 更为明显，这说明，在停止处理以后的 12 小时内，染色质还在继续松散．

豚鼠骨髓抽提液是强有力的中胚层诱导物质[5]，在它的作用下，原肠早期的预定外胚层被诱导分化为中胚层结构，在我们所用的浓度和处理时间，诱导频率对外植块而言可高达 100%．虽然，在每一块外植块中并不是所有的细胞都诱导分化为中胚层，但是，根据在继续培养的半个外植块进行的光学显微镜检查，被选择进行电子显微镜观察的细胞，应该基本上是受到诱导作用将转变为中胚层结构的．因此，可以认为，我们观察到的变化是外胚层细胞受到诱导作用之后的变化，也可以说，中胚层诱导物质在外胚层细胞核中所引起的变化，以染色质浓缩的程度来判断，是核内异染色质向常染色质的转变．

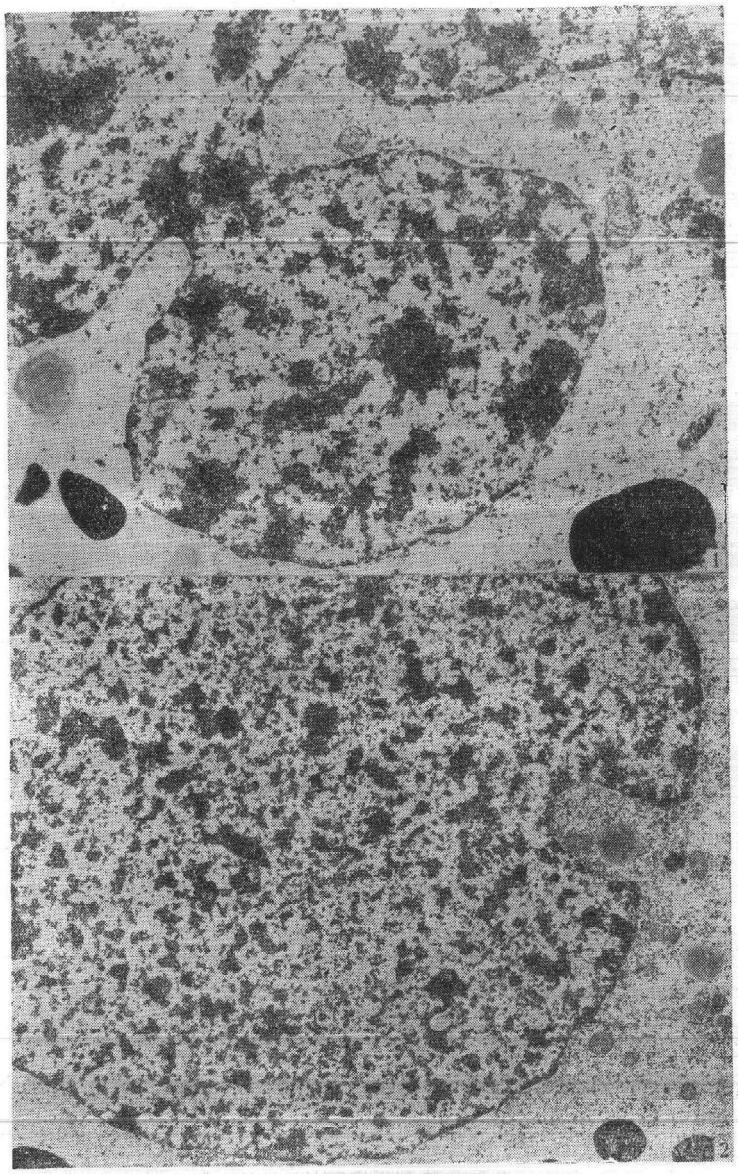
一般把异染色质和转录不活跃相联系，而认为不同程度的转录活动则发生在松散的染色质区域[6,7]．至于在我们的例子里，是否因为诱导刺激而转录活跃起来了，单单根据电子显微镜超薄切片的形态学观察似乎还不应过早地下结论．

很有兴趣的是，在用缺钙处理引起神经诱导的实验中，外胚层细胞的细胞核也表现了同样

的变化[2]. 可以认为,诱导刺激,中胚层诱导和神经诱导一样,在诱导的早期都能引起细胞核的明显变化. 至于这种变化的普遍性,它是否只出现在实验条件下,还是也出现在正常的个体发育中,需要进一步的工作才能判断,到那时也许可以更好地理解这种变化的意义. 最后,这种变化是诱导物质直接引起的,还是通过某种因素间接引起的,也是值得深入研究的问题.

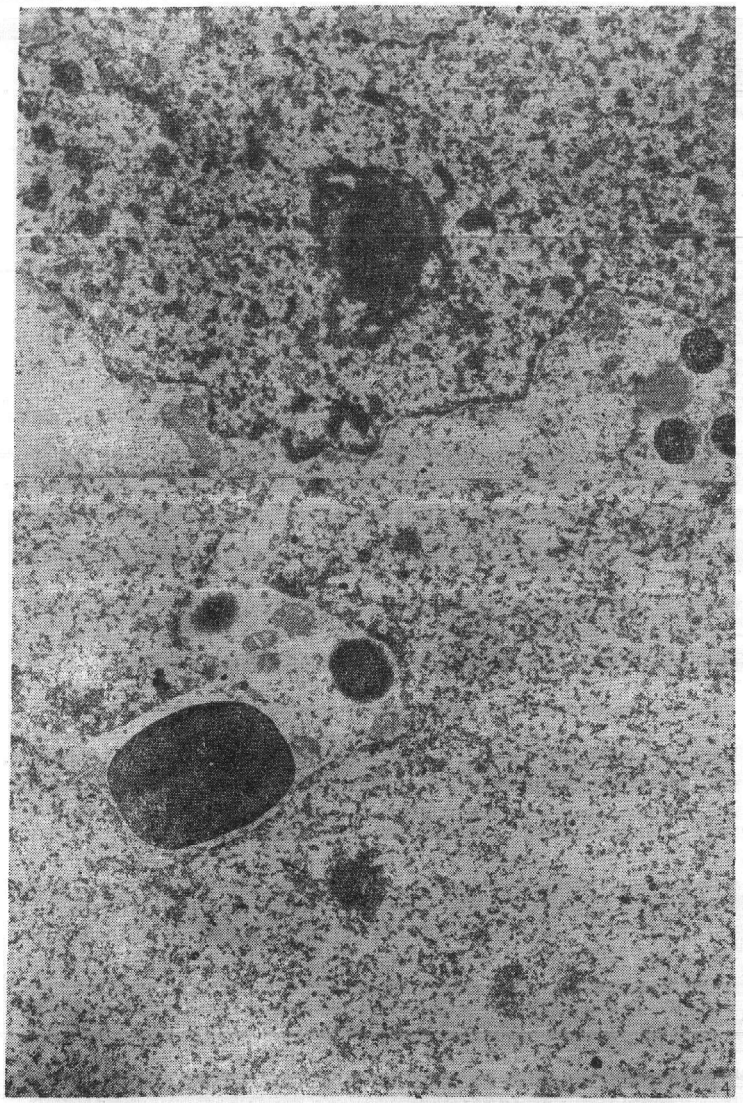
参 考 文 献

[1] Toivonen, S., *J. Embryol. Exp. Morph.*, **1** (1953), 97—104.
[2] 曾弥白、莫慧英、张哲夫,实验生物学报 **10** (1964), 158—167.
[3] Tarin, D., *J. Anat.*, **111** (1972), 1—28.
[4] Grunz, H., *Roux' Arch. EntwMech. Org.*, **173** (1973), 283—293.
[5] Tseng Mi-pai, Mo Hui-yin & Chiang Wen-su, *Scientia Sinica*, **13** (1964), 1882—1884.
[6] Brown, S. W., *Science*, **151** (1966), 417—425.
[7] Franke, W. W., et al., In *Differentiation and Neoplasia* (Ed. McKinnell, R. G., et al.), 1980. 15—36.



1.对照组，分离培养24小时后外胚层细胞的部分细胞核，示浓缩的染色质团块。×10,500。

2.中胚层诱导物质处理 12 小时后外胚层细胞的部分细胞核，示分散的较小染色质团块。×10,500。



3. 中胚层诱导物质处理 12 小时后外胚层细胞的部分细胞核，示核仁及其附近分散的染色质小团块．×10,500.

4. 中胚层诱导物质处理 12 小时再继续培养 12 小时后外胚层细胞的部分细胞核，示完全疏散的染色质纤维．×10,500.