

# 罗氏沼虾卵母细胞细胞器与卵黄发生的关系

王玉凤<sup>1)</sup> 堵南山<sup>2)</sup> 赖伟<sup>2)</sup>

1) (中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

2) (华东师范大学生物系 上海 200062)

**摘要** 作者研究了罗氏沼虾卵母细胞细胞器与卵黄发生的关系。细胞核物质通过核孔与细胞质进行物质交换, 由核仁而来的核糖体前体物在细胞质中形成大量的核糖体。一部分核糖体附着在内质网囊泡的膜上, 形成粗糙型内质网。粗糙型内质网囊泡具有合成和运输卵黄物质的功能。一部分核糖体是游离的, 它们可在细胞质中合成致密蛋白质小颗粒, 随后这些颗粒逐渐聚集融合成致密的卵黄粒。溶酶体可吞噬这些由游离核糖体形成的蛋白质颗粒团或其它膜状物, 并将它们消化、融合, 从而形成大的卵黄粒。部分线粒体参与了卵黄粒的合成并最终演变成卵黄体。微丝也参与了卵黄粒的形成。

**关键词** 罗氏沼虾, 卵母细胞, 细胞器, 卵黄发生

卵黄及其发生过程一直是细胞学家感兴趣的问题。卵黄不仅是胚胎发育所需营养成分的主要来源, 而且由于其中有酶的存在, 在卵母细胞的代谢中起着重要的作用<sup>[1]</sup>。李玉安等系统而又富有创造性的研究证明, 鸡蛋和鸡胚卵黄粒内存在染色质结构, 并指出卵黄粒具有合成DNA的能力<sup>[2,3]</sup>。陈楚楚等研究证明, 南京丰年虫卵黄粒在离体培养下能够重新组建完整的细胞<sup>[4]</sup>。这些成果表明, 卵黄粒中还含有遗传物质, 能在胚胎的发育中起到调控作用<sup>[3]</sup>, 因此研究卵黄发生具有重要的意义。

在不同的动物中, 卵黄形成方式是有区别的。甲壳动物的卵黄发生与卵母细胞的一些细胞器的活动密切相关<sup>[5-8]</sup>。罗氏沼虾具有很高的经济价值, 有关其幼体发育、人工养殖等方面的研究已有报道<sup>[9]</sup>, 但对作为胚胎发育首要条件的卵黄的发生却研究甚少。作者在研究罗氏沼虾生殖生物学时, 对卵子发生过程中细胞器的活动作了详细观察, 以探讨它们在卵黄发生过程中的作用。

## 1 材料与方法

试验用材料于1994年9月—1995年1月购自上海市长风集贸市场。

将卵巢切成小块, 用2.5%戊二醛和1%锇酸(二者均用0.2mol/L, pH7.2磷酸缓冲液

配制)双重固定,经酒精脱水与丙酮转换后,以国产环氧树脂 618 包埋,以瑞典 LKB-2088 超薄切片机切片,醋酸铀和柠檬酸铅双重染色,最后在 JEM-100CX II 透射电子显微镜下观察和摄影。

光镜样品以 Bouin 氏液固定,酒精脱水,石蜡包埋,切片厚  $7\mu\text{m}$ ,达氏(Delafield's)苏木精-伊红对染,Olympus 显微镜下观察、拍照。

## 2 结果

### 2.1 细胞核是卵黄蛋白合成的基础

在罗氏沼虾卵子发生过程中,细胞核变化很大。在卵原细胞中,核呈圆形或长圆形,约  $3 \times 5\mu\text{m}$ ,占据细胞体积的绝大部分,核内异染色质显著,电子致密度较高,呈小块状,多沿核膜内侧分布,核内还散布一些细小的颗粒物质。核膜双层,有一些核孔供核内外物质进出。

在卵原细胞发育为初级卵母细胞的初期,核内异染色质大量增加,且移向核的中央,形成核仁,直径可达  $2.5\mu\text{m}$ ,核仁无界膜(图版 I, 1)。核孔大量增加,细胞核与细胞质间的物质可通过这些密集的核孔进行交换,此时细胞中形成大量核糖体(图版 I, 2)。

细胞核物质通过核孔进入到细胞质中,为卵黄蛋白的合成打下重要的基础。

### 2.2 内质网具有合成和运输卵黄蛋白的功能

内质网囊泡首先出现在核外周的细胞质中,形态各异。一部分核糖体附着在内质网囊泡的膜上,形成粗面内质网(图版 I, 3)。随着卵母细胞的发育,粗面内质网变成长而弯曲的膜囊,有的还有分支。膜的表面核糖体密集,有的膜一端膨大断裂,形成新的内质网囊泡。这些内质网囊泡中逐渐沉积一些絮状或电子致密度较高的卵黄蛋白颗粒(图版 I, 4, 5)。后来这些内质网囊泡聚集,颗粒融合,致密度增加,从而形成大的卵黄颗粒。

### 2.3 核糖体是卵黄蛋白合成的主要场所

在罗氏沼虾卵黄发生时,细胞质中含有大量核糖体,这些核糖体有的是以游离状态存在的,这种核糖体上可合成电子致密度较高的细颗粒,这些颗粒相互聚拢,形成小团,进入囊泡,由于囊泡融合,由小到大发展(图版 I, 6),有的即以颗粒聚集成团,随着聚集的颗粒逐渐增多,颗粒相互融合,其内电子致密度增大(图版 II, 1),最后形成卵黄颗粒。

### 2.4 溶酶体也积极参与卵黄蛋白的合成

在罗氏沼虾卵子发生过程中,可见到很多的溶酶体,它们也积极参与卵黄粒的形成。细胞中的溶酶体包围许多细胞组分,形成髓样结构,这些髓样结构中的许多成分逐渐被溶酶体内的水解酶消化为细小颗粒。图版 II, 2 示溶酶体正在吞噬上面所提到的致密颗粒团。这些颗粒在溶酶体中融合、蓄积,电子密度不断增大(图版 II, 3, 4),随后演变为卵黄颗粒。

### 2.5 线粒体可直接演变成卵黄粒

卵母细胞进入卵黄发生阶段,线粒体数量迅速增加,在卵核外周和质膜内侧比较密集。线粒体外的一些致密颗粒穿过外膜顺着内膜向腔中凸起的管状嵴进入线粒体腔中,有的颗粒体积较大,电子致密度较高,从而使线粒体内的嵴断裂退化成小泡状,同时在腔中形成一些致密度较高的颗粒(图版 II, 5)。这些颗粒逐渐融合,腔内电子致密度增大,随

后,整个线粒体逐渐演变为卵黄粒。图版 II, 6 示一个由线粒体演变成的卵黄粒,其中还隐约可见一些断裂的嵴。

## 2.6 微丝参与卵黄粒形成是罗氏沼虾卵黄发生的一大特点

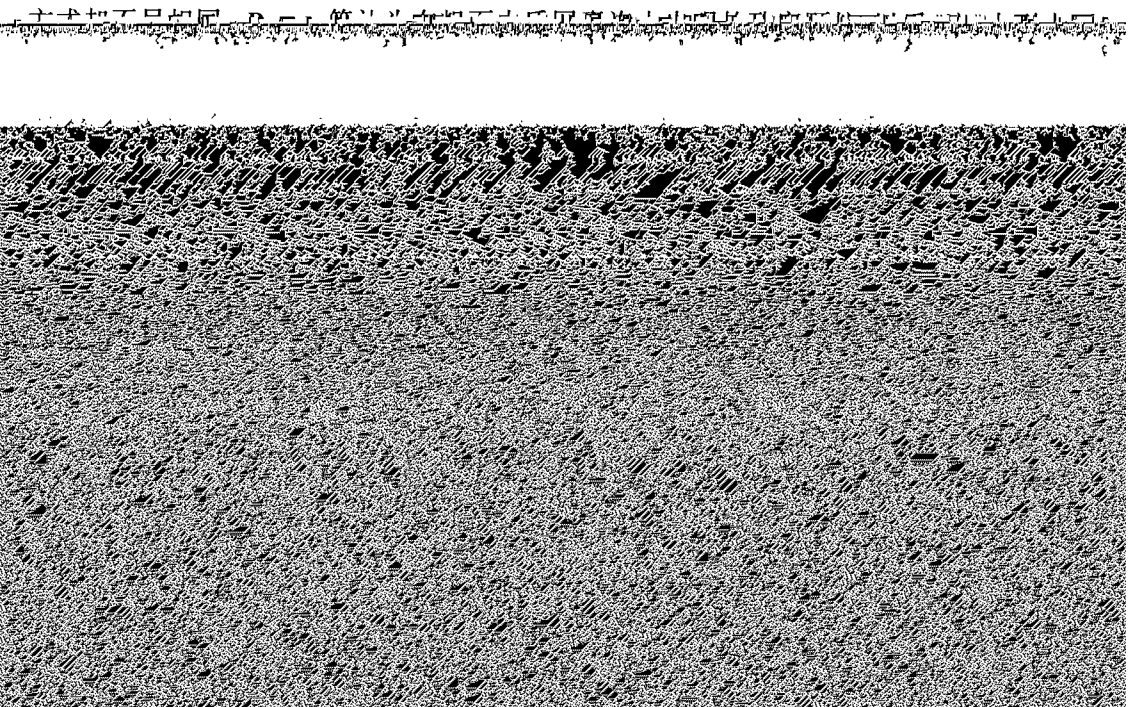
在卵黄发生初期,细胞质中有许多成堆的微丝束,每根微丝直径约在 5—10nm,在它们之间和周围有很多核糖体、致密小颗粒以及含有核糖体或附有致密小颗粒的囊泡(图版 III, 1, 箭头所示)。在卵黄发生期,微丝束从边缘开始向中央逐渐断裂,形成团状(图版 III, 2)。单根的或成束的微丝可以通过相互作用,沿其长度移动其它物质,或者它们有可能通过某种方式牵引它的末端所附着的一些结构<sup>[10]</sup>。由于这些微丝的活动使游离在其间或附近的核糖体产生的致密颗粒逐渐聚集成小块,致密度逐渐增强。有的即在微丝中沉积(图版 III, 3),使得微丝退化溶解,随着蛋白质颗粒不断增加,互相融合而形成较大的卵黄颗粒。微丝参与卵黄合成是一新的发现。

由于各种细胞器的积极活动,最后当卵母细胞成熟时,其中含有大量的卵黄颗粒,即将与包围着它们的滤泡细胞(箭头所示)脱离而产出(图版 III, 4)。\*

## 3 讨论

3.1 在卵原细胞,细胞核中仅有少量异染色体呈小块状附于核膜内面。到卵黄发生期,核中异染色质松散,向中央移动形成核仁<sup>[10]</sup>,而且核中异染色质数量大增,核膜上核孔密集,核质间进行活跃的物质传递,甚至成块的核仁物质移至胞质中。这是因为核糖体的前体分子是在细胞核,而主要是在核仁中合成并储存在那里,以后它们移到核的其它部分,或通过核孔转移到细胞质中,形成大量核糖体<sup>[10]</sup>,从而为卵母细胞快速生长,在短时间内合成大量蛋白质提供场所和条件。

3.2 内质网参与卵黄粒的形成,在大多数动物类群中都有过报道<sup>[6, 8, 11]</sup>,但其参与形成的



的过程<sup>[10]</sup>,为卵黄粒的这种形成方式提供了一定的证据。

在卵黄发生初期的卵母细胞中,出现许多成束状的微丝,它们的活动也帮助卵黄的形成,因为它们可以通过相互作用,沿其长度移动其它物质,或通过某种方式牵引它们附着的一些结构(如核糖体或致密小颗粒等),从而为卵母细胞在短时间内合成大量蛋白质打下基础。此外,它们本身最后也演变成了卵黄粒,因它们本身也是一种蛋白质。微丝参与卵黄合成还未见报道。

## 参 考 文 献

- [1] Brachet J. 严绍颐译. 发育的生物化学. 北京:科学出版社,1965:4—39
- [2] 李玉安等. 鸡胚细胞核和胚下卵黄颗粒染色质的电子显微镜观察. 中国科学(B辑),1982,(11):1007—1010
- [3] 李玉安等. 未受精鸡蛋表层卵黄颗粒的染色质和 DNA. 中国科学(B辑),1982,(12):1089—1091
- [4] 陈楚楚等. 南京丰年虫卵黄颗粒在离体培养下重建细胞的电子显微镜观察. 中国科学(B辑),1982,(10):888—891
- [5] 洪水根等. 长毛对虾卵子发生的研究 II. 卵黄发生. 海洋与湖沼,1992,23(3):280—284
- [6] 堵南山等. 中华绒螯蟹成熟卵形态和超微结构的研究. 动物学报,1995,41(3):229—234
- [7] Beams H W., R G Kessel. Election mioroscope studies on developing crayfish oocytes with special reference to the origin of yolk. *J. Cell. Biol.* 1963, 18:621—649
- [8] Hinsch, G W., M V Cone. Ultrastructural observations of vitellogenesis in the spider crab *Libinia emarginata* L. *J. Cell Biol.*, 1969, 40:336—342
- [9] 廖一久. 淡水长脚大虾专辑. 台湾省水产试验所东海分所,1983
- [10] 诺维科夫, A. B, E. 霍茨曼著,李肇特主译. 细胞与细胞器. 北京:科学出版社,1985:110
- [11] 上官步敏,刘正琮. 缢蛏卵母细胞卵黄发生过程的超微结构观察. 海洋与湖沼,1995,26(1):48—51
- [12] Blades-Eckelbarger P I., M J Youngbluth. The ultrastructure of oogenesis and yolk formation in *Labidocera aestiva* (Copepoda, Calanoida). *J. Morph.* 1984, 179:33—46
- [13] 洪水根等. 鲎的卵黄发生. 海洋与湖沼,1987,18(3):286—290
- [14] 林加涵等. 僧帽牡蛎卵母细胞卵黄发生的超微结构研究. 厦门大学学报(自然科学版),1983,22(3):356—363
- [15] Favard P et al. Orangine et ulstructure de plaquettes vitellines de la planorbe. *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.* 1958, 47:211—234
- [16] Busson-Mabillot S. Endosome transfer yolk proteins to lysosomes in the vitellogenic oocyte of the trout. *Biol. Cell.* 1984, 51:53—66

## STUDIES ON THE RELATIONSHIP OF ORGANELLES IN OOCYTE WITH VITELLOGENESIS OF *MACROBRACHIUM ROSENBERGII*

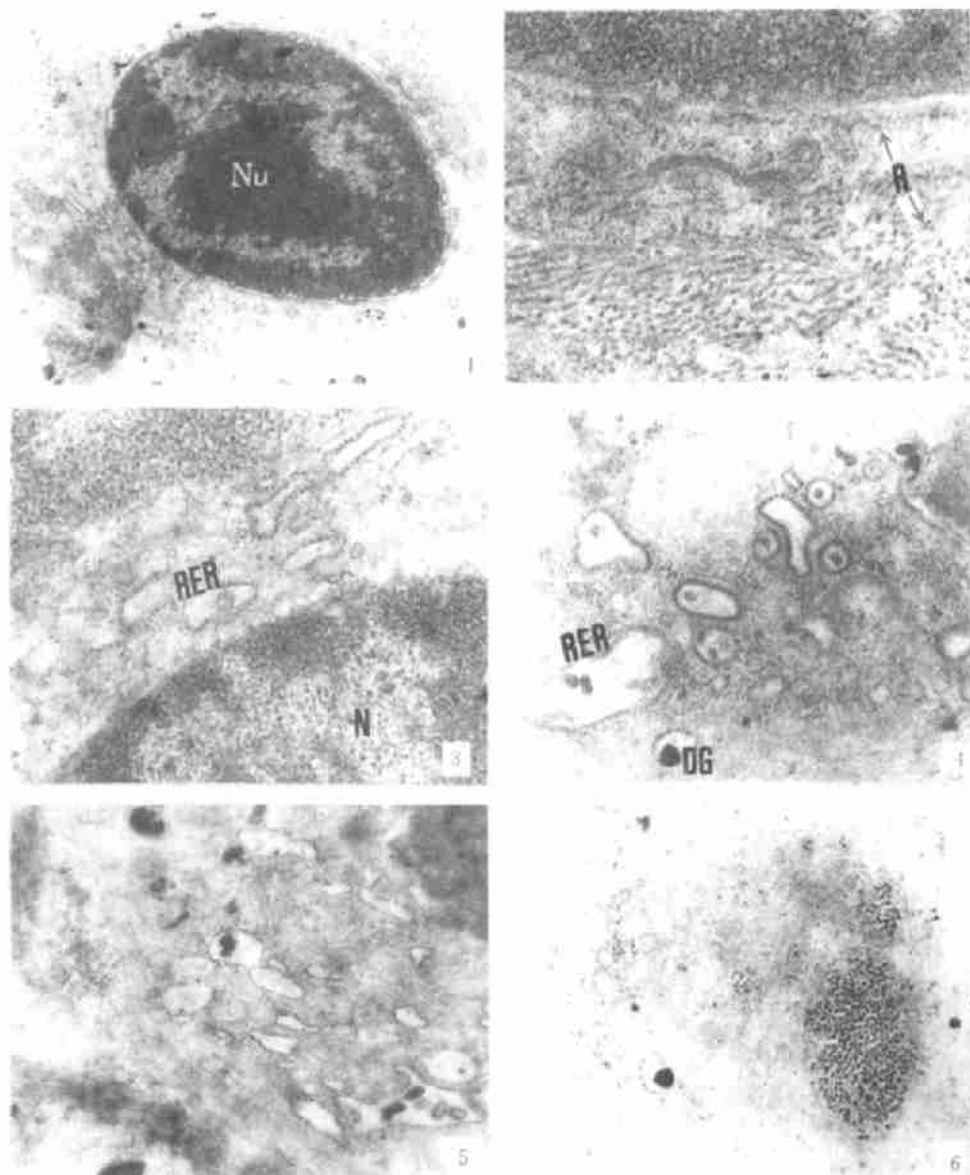
Wang Yufeng<sup>1)</sup> Du Nanshan and Lai Wei<sup>2)</sup>

1) (Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

2) (Department of Biology, East China Normal University Shanghai 200062)

**Abstract** This thesis described the relationship of organelles in the oocyte with vitellogenesis in *Macrobrachium rosenbergii*. A large quantities of particles from the nucleolus may pass through the nuclear pores into the ooplasm and then form the ribosomes, some of which adhere to the membrane to form the rough endoplasmic reticulum (RER). The RER was shown to have functions of synthesizing and transmitting yolk materials. A lot of free ribosomes existing in cytoplasm provide the places for protein synthesizing, and thus form yolk bodies by aggregation and fusion of these proteinous particles. Some mitochondria take part in the production of and directly developed into yolk granules. Lysosomes and microfilaments are also involved in the formation of yolk granules.

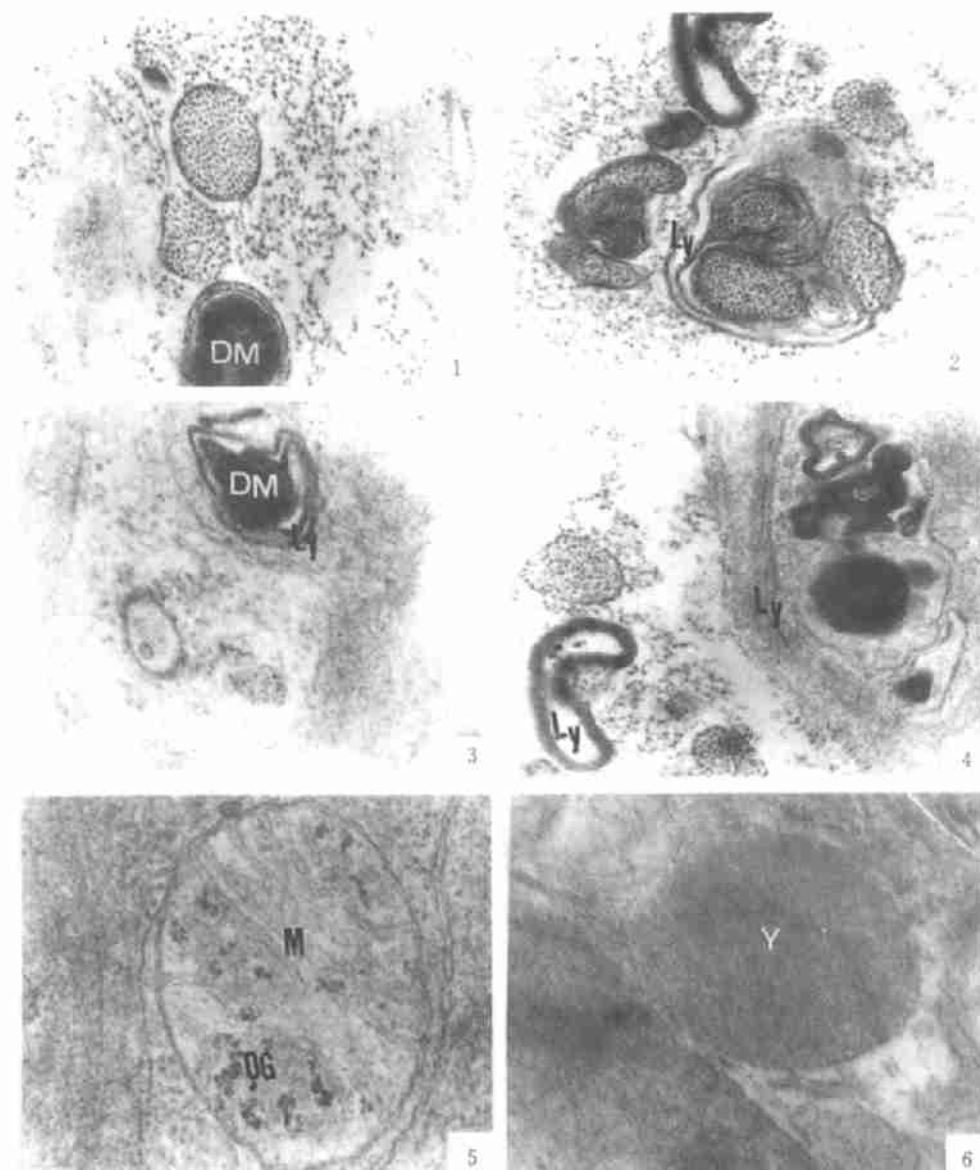
**Key words** *Macrobrachium rosenbergii*, Oocyte, Organelles, Vitellogenesis



DG: 致密颗粒 (dense granules); DM: 致密团 (dense mass); Ly: 溶酶体 (Lysosome); M: 线粒体 (mitochondrion); MF: 微丝 (microfilament); N: 细胞核 (nucleus); Nu: 核仁 (nucleolus); Oo: 卵母细胞 (oocyte); R: 核糖体 (ribosome); RER: 粗面内质网 (rough endoplasmic reticulum); Y: 卵黄粒 (yolk granule)

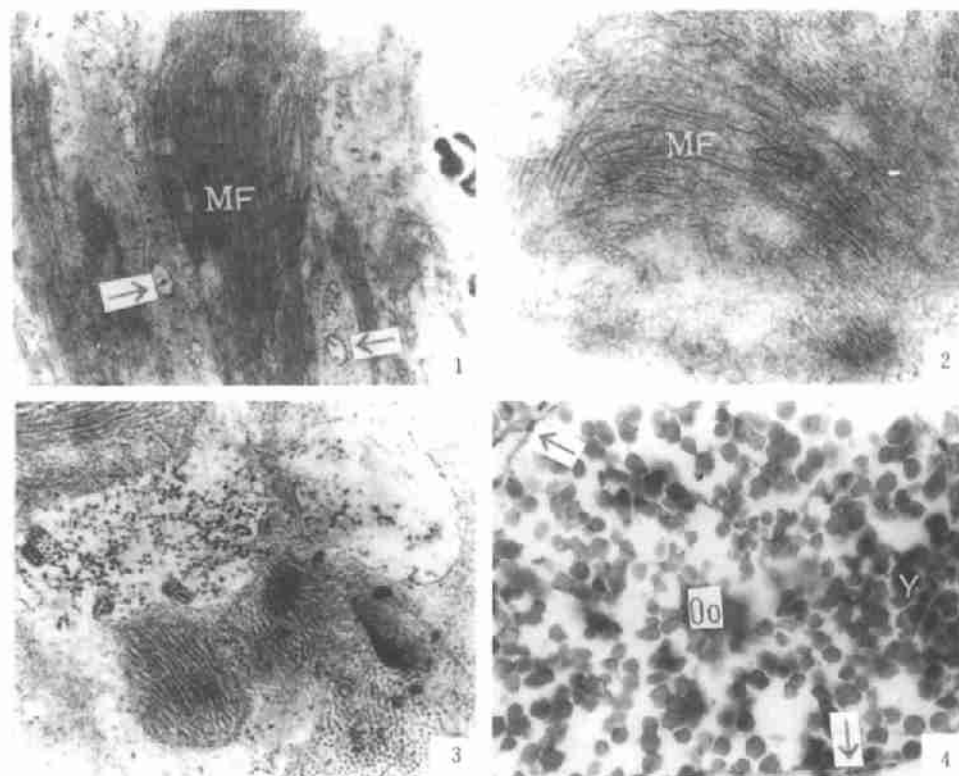
1. 卵黄发生初期卵母细胞的细胞核和核仁。×13300; 2. 核物质进入细胞质中, 形成大量核糖体。×67600; 3. 核糖体附着在内质网膜上, 形成粗面内质网。×100000; 4. 致密颗粒在粗面内质网囊泡中沉积。×50000; 5. 致密颗粒在内质网囊泡中沉积。×22000; 6. 游离核糖体形成的致密小颗粒聚集成团。×45000

1. The nucleus and nucleolus of the oocytes in early vitellogenesis ×13300; 2. The ribosomes were formed in cytoplasm by the particles coming from the nucleus. ×67600; 3. The rough endoplasmic reticulum (RER). ×100000; 4. The dense granules deposited in the vesicles of RER. ×50000; 5. The dense granules deposited in the vesicles of ER. ×22000; 6. The mass gathered with little granules formed by free ribosomes. ×45000



1. 小颗粒在团中融合, 形成致密块。× 32000; 2. 溶酶体包绕并消化颗粒团。× 27000; 3. 溶酶体中电子密度增大。× 4000; 4. 溶酶体形成卵黄粒。× 27000; 5. 致密颗粒进入线粒体。× 45300; 6. 由线粒体形成的卵黄粒。× 93000

1. Dense mass made by fusing of granules. × 32000; 2. Lysosomes encompassing and digesting the mass gathered by granules. × 27000; 3. Densifying the mass in the lysosomes. × 4000; 4. The yolk granules formed in lysosomes. × 27000; 5. Dense granules entering the mitochondrion. × 45300; 6. Yolk granules developed from mitochondrion. × 93000



1. 卵母细胞中的微丝束。  $\times 10000$ ； 2. 部分边上的微丝断裂、退化。  $\times 20000$ ； 3. 断裂的微丝形成团，致密小颗粒在其中沉积，并和丝融合。  $\times 32000$ ； 4. 成熟卵细胞中含大量卵黄颗粒。  $\times 1500$ 。

1. The bundles of microfilament in the oocytes.  $\times 10000$ ； 2. Fracture of the microfilament.  $\times 20000$ ； 3. Dense granules deposited in the mass gathered with fracturing microfilaments.  $\times 32000$ ； 4. Many yolk granules in the mature egg.  $\times 1500$