

研究简报

一种显示鱼类脑垂体细胞糖蛋白分泌颗粒的电镜细胞化学技术

王 文

(南京师范大学生物系电镜室)

A CYTOCHEMICAL ELECTRON MICROSCOPY FOR SHOWING PROTEOGLYCAN GRANULES IN THE PITUITARY CELL OF FISH

Wang wen

(*Biology Department of Nanjing Normal University*)

关键词 脑垂体, 糖蛋白, 电镜细胞化学技术

Key words Pituitary, Proteoglycan, Cytochemical electron microscopy

硬骨鱼脑垂体的内分泌细胞与其它动物一样, 可根据其分泌激素的不同分为5种^[1], 在透射电镜下, 这些细胞分泌的颗粒都呈现出一定的电子密度。只依这些颗粒的大小及多少有时很难区别不同的细胞。本实验运用六胺银-多糖定位法^[2]可清楚地显示出含有糖蛋白分泌颗粒的促甲状腺激素(TSH)细胞和促性腺激素(GTH)分泌细胞, 而其它不含糖蛋白分泌颗粒的细胞则不着色, 因而这两种细胞的分布和数目可一目了然。另外, 运用此法还证实了GTH细胞的大、小分泌颗粒均含糖蛋白, 为这种细胞的生物学研究以及鱼类的生殖生物学研究提供了有价值的资料。

材料和方法

分别将鲫和团头鲂的脑垂体从脑颅中取出, 放入4%戊二醛中固定2小时, 然后在1%四氧化锇(O₄O₄)中固定2小时(以上操作均在4℃下进行)。经丙酮梯度脱水, Epon 812环氧树脂

包埋, LKB-V型超薄切片机切片。对照组进行常规的醋酸双氧铀及柠檬酸铅染色。实验组用不透铜网载片, 在1%过碘酸液中处理20分钟, 重蒸水洗10分钟, 六胺银(由3%新鲜六亚甲四胺溶液、5%硝酸及5%四硼酸钠组成的混合染液)染色40—60分钟(60℃温箱内), 避光移入冰箱冷却, 5%硫代硫酸钠洗5分钟, 最后重蒸水洗3次, 室温干燥, 日立H-600-2A型电镜观察、拍照。

结 果

1. 对照组(常规染色处理)

鲫(图版I:1)和团头鲂(图版I:2)脑垂体的几种细胞均含颗粒, 其电子密度相近, 鲫(图版I:1)的促甲状腺激素分泌细胞(T)与催乳素分泌细胞(p)颗粒大小相近, 不易区别。

1988年10月17日收到。

2. 实验组(过碘酸-六胺银染色处理)

两种鱼的 GTH 细胞 (G) 和 TSH 细胞 (T) 中的分泌颗粒着色很深(阳性反应)，而其它细胞的分泌颗粒均不着色(图版 I:3、4)。TSH 细胞 (T) 与催乳素分泌细胞 (P) 很易区分(图版 I:1、3)。

讨 论

1. 过碘酸-六胺银多糖定位的原理

过碘酸是一种氧化剂，可氧化多糖分子上的 1, 2-乙二醇基，破坏 C-C 键，产生醛基，这些醛基使银-胺复合物(六胺银)中的离子银还原为金属银而在电镜下呈现出黑色物质。由于促性腺激素分泌细胞 (G) 和促甲状腺激素分泌细胞 (T) 都分泌糖蛋白分泌颗粒^[6]，故它们的颗粒呈阳性反应(图版 I: 3、4)。

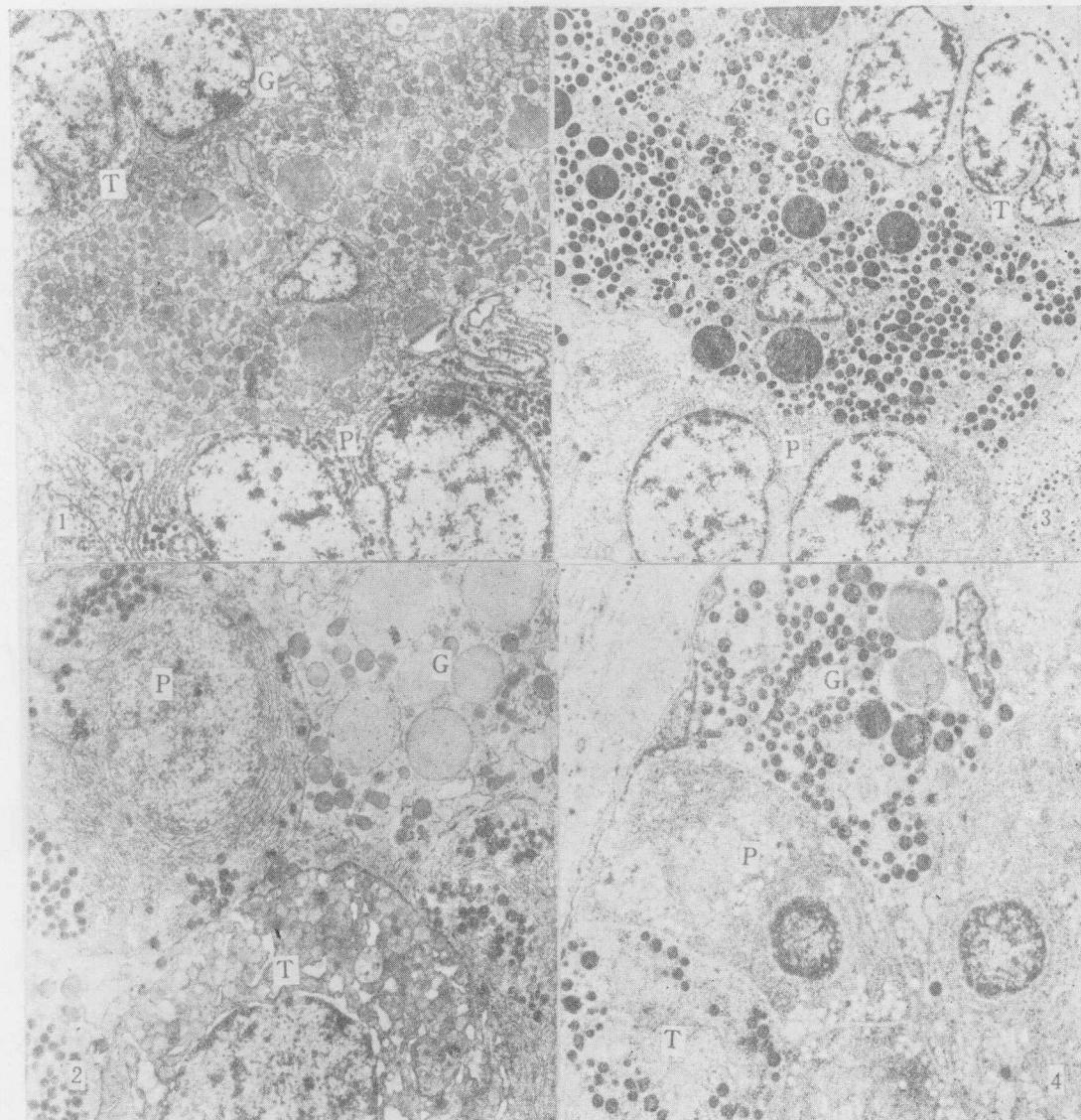
2. GTH 细胞分泌颗粒的性质

GTH 细胞是研究鱼类生殖生理及人工催产机制的关键细胞。目前对于该细胞中大、小两种分泌颗粒的性质还不十分清楚^[4]。一些学者认为，小颗粒可能与鱼类的排卵有直接关系，而大颗粒与排卵无关^[1, 2]。最新研究成果表明，在鱼类有两种促性腺分泌激素，一种是为伴刀豆蛋白-A-琼脂吸收的糖蛋白 (ConAII)，能促进性腺成熟和排卵，另一种为对此不吸收的非糖蛋白

(ConAI) 只对卵细胞的卵黄生成有促进作用^[5]，与排卵无直接关系。本实验运用六胺银多糖定位法在 GTH 细胞的大、小颗粒中均得到了阳性结果(图版 I: 3、4)，说明大、小颗粒中都含有糖蛋白，由此可推断大颗粒中也含有 ConAII 成分，与排卵有一定关系，这一结果进一步弄清了大颗粒的性质，为鱼类的生殖生理及人工催产机理的研究提供了有价值的参考资料。

参 考 文 献

- [1] 王良臣、阎家本、刘修业，1986。黄鱲垂体嗜碱性细胞组织化学研究。鱼类学论文集(第五辑): 29—34。
- [2] 方永强、汪敏、许瑞安，1983。丘脑下部促黄体释放激素类似物 (LRH-A) 的作用机制 III. 对罗非鱼脑垂体促性腺激素分泌细胞超微结构的影响。动物学报, 29(2): 124—127。
- [3] 严共华译 (P. R. Lewis, D. P. Knight, 著), 1981。切片材料的染色方法(电镜技术)。114—119 页。人民卫生出版社。
- [4] 林浩然，1981。关于硬骨鱼类生殖内分泌学研究。水生生物学集刊, 7(3): 425—432。
- [5] Idler, D. R. and Ng., T.B., 1979. Studies on two types of gonadotropins from both salmon and carp pituitaries, *Gen. Comp. Endocrinol.*, 38(4): 421—440.
- [6] Motta, P. M., 1984. Ultrastructure of Endocrine Cells and Tissues, 12—28. Martinus Nijhoff Pub., Boston.



1. 鲫脑垂体内分泌细胞, 常规染色处理, G为促性腺激素分泌细胞, T为促甲状腺激素分泌细胞, P为催乳素细胞,
 $\times 3\,000$; 2. 团头鲂脑垂体内分泌细胞, 常规染色处理, $\times 4\,000$; 3. 为图1的连续切片, 经过碘酸-六胺银法处
理可显示出促性腺激素分泌细胞(G)和促甲状腺激素分泌细胞(T)中的糖蛋白分泌颗粒, $\times 3\,000$; 4. 团头鲂
垂体内分泌细胞, 过碘酸-六胺银法处理, $\times 3\,000$

1. Pituitary cells in *Carassius auratus*, showing Gonadotropic cells (G), Thyrotropic cells (T)
and prolactin cells (P). Conventional preparation and staining. $\times 3\,000$; 2. Pituitary cells in
Megalobrama amblycephala. Conventional preparation and staining. $\times 4\,000$; 3. The serial
section of the specimen in fig. 1, treated with silver nitrate-methenamine staining method.
The proteoglycan granules in Gonadotropic cells (G) and Thyrotropic cells (T) show positive
reaction. $\times 3\,000$; 4. Pituitary cells in *Megalobrama amblycephala*, treated with silver
nitrate-methenamine staining. $\times 3\,000$