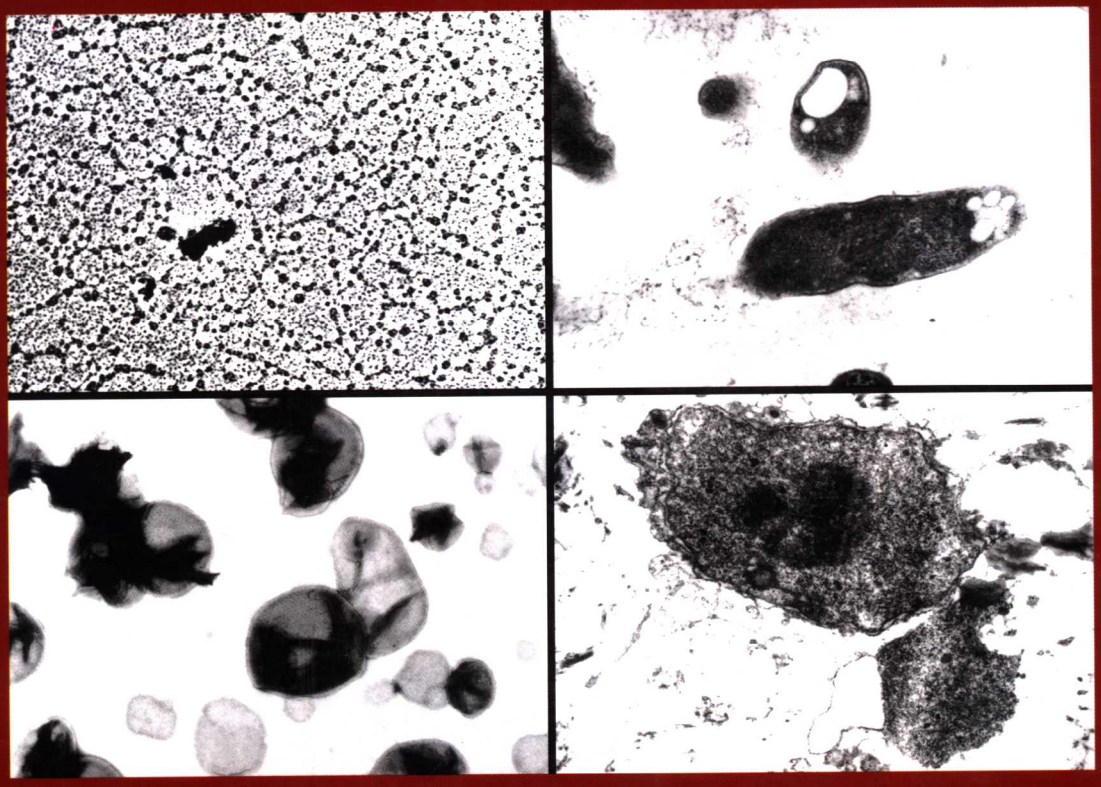
细胞重建 第二集

CELL REFORMATION Series2

贝时璋 主编

Edited by Bei Shizhang



科学出版社
www.sciencep.com

157
4
15

细胞重建
CELL REFORMATION

第二集
Series 2

贝时璋 主编
Edited by Bei Shizhang

科学出版社
北京

内 容 简 介

本论文集为第二集，由中国科学院生物物理研究所细胞重建研究组的18篇尚未发表过的论文汇集而成，集中报道了细胞重建的诱导和模拟及其相关问题的研究结果，同时提供了大量光学显微镜和电子显微镜照片，以资佐证.

本论文集可供生物科学研究工作者和教学工作者参考.

图书在版编目（CIP）数据

细胞重建. 第二集/贝时璋主编. —北京：科学出版社，2003.9
ISBN 7-03-011759-X

Ⅰ.细… Ⅱ.贝… Ⅲ.细胞-重建-文集 Ⅳ.Q2-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2003）第 056258 号

责任编辑：沈红芬 白松乾 / 责任校对：赵 燕
责任印制：赵德静 / 封面设计：张 放

科学出版社出版
北京东黄城根北街 16 号
邮政编码：100717
http://www.sciencep.com
中国科学院印刷厂印刷
科学出版社发行 各地新华书店经销
*
2003 年 9 月第 一 版 开本：787×1092 1/16
2003 年 9 月第一次印刷 印张：9 3/4
印数：1—2 000 字数：220 000

定价：28.00 元

（如有印装质量问题，我社负责调换〈科印〉）

序

在贝时璋院士华诞100周年之际，出版他的《细胞重建》论文集第二集，这是中国科学界的一件喜事.

贝老与我是宁波同乡，也是我浙江大学的师长. 为他的论文集作序，我深感荣幸. 我也借此机会，衷心祝愿贝老身体健康!

1932年春天，贝老在杭州郊区松木场稻田里采集到南京丰年虫中间性个性. 丰年虫属甲壳纲动物的叶足类. 中间性是指个体在发育过程中的一定阶段同时呈现雌雄性征. 根据呈现的性征偏于雌性或雄性的程度不同，中间性有五种类型. 贝老对其生殖腺的性转变进行了研究. 在转变过程中，贝老观察到生殖细胞转变的全部过程包括细胞的解体（细胞解形，cell deformation）和细胞的重新形成（细胞重建，cell reformation）. 1934年，在浙江大学生物系的一次讨论会上，贝老报告了这些现象和他的看法. 1942年，《科学记录》(《Science Record》) 创刊，这项工作成果得以正式发表. 贝老在论文里，分析了五种中间性类型丰年虫性转变过程中生殖细胞的解形和重建的情况，叙述了从卵黄颗粒转变为完整细胞的现象，探讨了它的机制. 贝老所以称它是细胞的重建，因为重建是复兴，表现在卵黄颗粒具备组成细胞的一切原料. 细胞解形产生了卵黄颗粒，卵黄颗粒反过来提供了重建细胞的材料. 这说明，当组成细胞的物质基础存在以及环境合适的时候，可以不通过细胞分裂的方式形成细胞. 而生物学界认为一切细胞来自细胞，认为细胞分裂是细胞繁殖增生的惟一途径. 如果说可以通过细胞分裂以外的细胞重建方式繁殖增生细胞，势将被看做是对生物学的亵渎，是可笑的愚昧和狂妄. 这样的疑虑当然不足取. 好在贝老终究将论文发表了，而且并未受到责难. 但是，由于种种原因，这一研究工作被中断了.

一直到1970年，贝老才又重新开展了细胞重建的研究. 和30多年前相比，原先基本上是贝老一个人干，而此后有了一个集体——中国科学院生物物理研究所细胞重建研究组. 原先的研究材料只有南京丰年虫一种，此后除丰年虫外，他们还研究鸡胚、小鼠骨髓以及沙眼衣原体、大豆根瘤菌等. 原来的研究方法只是光学显微镜观察，此后他们应用了包括电子显微镜、显微缩时电影、相差定位观察、放射自显影、荧光偏振、双荧光标记能量转移、荧光漂白恢复、拉曼光谱等，以及生化方面的其他各种新技术、新方法. 在原先工作的基础上，他们获得了新的发现、新的知识. 在1988年出版《细胞重建》论文集第一集时，他们的研究结果，已经可以概括地叙述为：

(1) 细胞重建是一个自组织（self-organization）过程，只要具备组成细胞的物质基础和合适的环境，在生物体内，或在离体培养中，都有可能发生细胞重建或核重建.

(2) 细胞重建在自然界内广泛存在，不仅真核细胞能重建，原核细胞也能重建. 不仅生殖细胞能重建，胚胎的或成长个体的体细胞也能重建.

(3) 在鸡胚卵黄颗粒内有DNA、组蛋白和染色质，在合适的环境下能重建细胞.

染色质不是细胞核独有的物质．卵黄颗粒也不是没有生命的细胞内含物．

（4）细胞和细胞核可以从细胞质重建，说明细胞质、细胞核之间本来就没有森严的壁垒．

（5）细胞重建很可能是地球上细胞起源在今日生命世界的反映，是简单的生命形态发展为细胞的漫长过程的一个缩影．细胞重建的研究，有助于生命进化的阐释．

（6）细胞分裂是“闭锁性”的繁殖，细胞在分裂过程中和它的环境是以细胞膜隔离的．细胞重建是“开放性”的繁殖，在重建过程中细胞组分始终和周围环境打成一片．把细胞分裂和细胞重建结合起来研究，把模拟和诱导自组织结合起来研究；对改变细胞的结构和性质，改造细胞的性状，选优汰劣，控制定向生产，也就是说对促进和发展细胞工艺和细胞工程，将提供新的手段和途径．

论文集的第一集出版后，他们又做了大量工作，有的属于广泛取证的性质，有的属于深入本质的探讨，重点在于研究细胞重建的诱导和模拟．此次出版的《细胞重建》论文第二集，收录了贝老及其领导的研究组的 18 篇论文，集中报道细胞重建的诱导和模拟及其相关问题的研究结果．

细胞重建学说是贝老经历 70 多年的研究与探索而创立的．任何学说都有其产生、发展、完善的过程．《细胞重建》论文集的出版，其意义不仅仅在于对细胞重建研究工作的总结和介绍，还在于展现了贝老勇于创新、敢为人先、实事求是、坚定执著的科学精神和品质，以及营造了百花齐放、百家争鸣的学术氛围和环境．

路甬祥

2003 年 7 月，北京

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

前　言

《细胞重建》论文集的第一集[1)]于1988年12月出版，收入论文24篇（论文目录见附录），报道了细胞重建的基本情况：细胞重建是细胞的新生，是从头开始、从无到有的细胞繁殖增生方式；细胞重建在自然界广泛存在，不仅真核细胞能重建，原核细胞也能重建，不仅生殖细胞能重建，胚胎的或成长个体的体细胞也能重建；只要具备组成细胞的物质基础和合适的环境，在生物体内或在离体培养的不存在细胞的制备中，都有可能发生细胞重建或核重建.

此为《细胞重建》论文集的第二集，收入论文18篇.

论文集的第一集出版后，我们又做了大量工作，有的属于广泛取证的性质，有的属于深入本质的探讨，重点在于研究细胞重建的诱导和模拟. 细胞重建的诱导，研究的是细胞重建的控制和调节：在怎样的条件和环境下进行细胞重建，在怎样的条件和环境下抑制细胞重建. 细胞重建的模拟，研究的是细胞在怎样的条件和环境下，从没有细胞一步一步重建成完整的细胞. 论文集的第二集集中报道细胞重建的诱导和模拟及其相关问题的研究结果.

新陈代谢是生命的主要特征，存在于生命系统的各个层次，而最主要的是细胞这一层次. 细胞的新陈代谢，包括细胞内分子的新陈代谢（中间代谢或称基础代谢）和细胞自身的新陈代谢，即老细胞的凋亡与解体和新细胞的形成. 细胞的凋亡和解体与细胞重建有着密切关系. 伴随着正常细胞的新陈代谢而出现的老细胞死亡、新细胞产生过程，实质上是老细胞解体和新细胞重建的过程. 细胞解体产生的细胞物质，提供了重建细胞的材料，为新细胞的形成提供了物质基础，在条件合适的时候通过重建过程又形成新的细胞. 并且，我们在小鼠骨髓细胞、大豆根瘤菌和沙眼衣原体的研究中，都观察到通过诱导和模拟而重建出的新细胞都可以分化. 从而证实，细胞自身的新陈代谢与繁殖增生包含了“解体—重建—分化”的过程. “解体—重建—分化”过程的存在意义重大，构成了一个完整的细胞新陈代谢过程. 由此使我们更为深刻地认识到，如果以为细胞的繁殖增生只有细胞分裂一种方式，就难于理解在没有细胞的原始地球上怎么能够产生出最初的原始细胞？而且，细胞老是分裂下去，细胞不会死亡，细胞的新陈代谢怎么能够存在？

细胞重建的过程可以通过诱导而进行，其诱导因素多种多样，可以是体内的，即自身诱导，也可以用各种环境因素人工进行诱导. 我们进行了以某些物理因素和化学因素对细胞重建的诱导作用的研究. 关于环境对细胞重建的影响，在电场、磁场和重力场诸多物理因素当中，我们尤其重视重力场对细胞重建的影响. 失重或微重力对细胞的生

1）贝时璋主编，细胞重建（第一集）. 北京：科学出版社，1988

长、繁殖、分化的影响是很显著的. 重力影响细胞贴壁，影响细胞间相互作用和细胞间粘连，以及细胞与任何背景的粘贴，而粘连和粘贴与核重建和细胞重建均有关系. 这些问题在理论和实践上都有重要的意义. 在实验中我们观察到，在离体培养下比在整体原位上进行的细胞重建既快又多，其原因一是二者的离子浓度和离子强度不一样，二是二者的氧化还原作用也不完全一样. 因为细胞的新陈代谢无论在离体培养下或整体原位上，主要靠离子的浓度和强度以及氧化还原的作用. 离子强度偏高或离子浓度增加，对氧化比较有利，对还原有一定的抑制. 细胞分裂需要在氧化作用较强的条件下（一般在组织的表层）进行，而细胞重建则要在还原作用较强的条件下（一般在组织的深层）进行.

双翅目昆虫摇蚊的幼虫，其唾腺细胞很大，有巨大的染色体，是多线染色体，有多链 DNA. 在我们进行的离子浓度和离子强度对鸡红血细胞染色体和 DNA 的影响的研究中看到，鸡红血细胞是有细胞核的大细胞，染色体也是多线的，DNA 是多链的. 由此可知，染色体的大小、粗细和 DNA 的链数与细胞的大小有密切关系. 另外，哺乳动物成熟的红细胞是没有核的细胞，可以在体内存活较长时间，并承担着重要生理功能，此种情况值得深思.

细胞重建包括了细胞的自我合成，这是一种生物合成过程，可以在人工条件下模拟细胞的重建和自我合成. 对于细胞来说，最重要的是细胞核. 对于细胞核来说，最重要的是染色质和核膜. 关于染色质，我们对卵黄颗粒的 DNA 和组蛋白组合成为染色质、染色质相变成为染色体及其可逆性，作了分析和模拟；又在人工条件下系统地模拟了染色质的自我合成及其在细胞周期中的变化，以及在离体培养情况下的染色质自我合成. 通过创造人工的条件，可以实现 DNA 从染色体中分离出来、DNA 和组蛋白组合成染色质、染色质又在离体情况下或在细胞里凝聚成为染色体，反过来，染色体还可以解聚变成为染色质. 进行这样的模拟是很容易做到的，可以依靠一价和二价金属离子浓度的改变创造人工条件而实现，只是需要控制离子的强度不要太大，如若使用汞、砷等离子就会因其强度太大而导致细胞死亡. 关于核膜，我们认为它在分裂过程中消失（细胞分裂中期）和重新形成（末期）也与微环境的变化有关. 我们用人工建立的微环境模拟了核膜的消失和重建过程. 进行细胞重建的模拟研究，可以为人工合成细胞或生物合成细胞打下基础.

染色质和染色体都是凝胶体，由于染色体的凝胶强度高于染色质，所以二者的相不同. 染色质凝聚成染色体和染色体解聚成为染色质形态上的变化，实质上是二者凝胶体的相变. 所谓细胞周期中的前期、中期、后期和末期，也是染色体和染色质凝胶体相的变化：前期是染色质，中期和后期是染色体，到了末期又是染色质. 核膜的存在和消失与染色质和染色体相对应. 在生物体中，组织和结构也会发生溶胶状态与凝胶状态间的相互转变. 根据我们的经验，染色质结块或结团表明细胞开始凋亡.

生命的关键特征是“活”，只有直接研究活体状态才能了解真实的生命活动规律. 即使在某些情况下难于研究活体状态，也要设法把研究致死的和活体的状态二者结合起来进行. 此外，生命是一种开放系统，重要特征是其活动依存于内外环境，生命与环境构成不可分割的统一整体. 因此，研究生命科学的问题必须考察生命活动与环境的关

系，只注意内因的作用，而不去考察环境的外因作用以及外因通过内因所起的作用，往往会得出不正确的结论．在研究工作中，我们密切注意了生命的这两个方面的问题．我们所进行的细胞整体原位的观察和离体培养，都是研究的活体状态，从而揭示了细胞重建的动态过程．同时，通过改变环境条件进行细胞重建的模拟与诱导研究，也了解了活细胞的细胞重建与环境的密切关系．

生物是含水系统，被称为是一种散射介质；任何电磁辐射，包括带电的电子辐射和不带电的光辐射，进入生物体内，都将被散射，成为散射电子、散射光子；所以具有强磁场性质．细胞内分子的新陈代谢和细胞自身的新陈代谢，都与生物水有密切关系．

在实验中我们还观察到很多现象，从而可以区分出细胞重建的两种不同类型：单个细胞的重建和多个细胞的重建或称克隆式重建，卵黄球就是克隆式重建．在论文集的第一集里未加以区分，本论文集作了报道．

科学研究是求真理的过程，随着时间的推移和研究工作的深入，对真理的认识会越来越深刻．要求真理就要实事求是、持客观的态度，随时准备放弃或修正自己的看法，也要敢于坚持通过自己的实验得到的认识；要创新，首先要敢于创新，不能一味地强调“与国际接轨”，而在已有的理论面前止步不前．这便是我们在细胞重建研究工作中的指导思想．

我们的研究工作形成的论文尚未全部收入本论文集，还有一些已经写成或在整理之中，待适当的时候再行结集或在学术刊物上陆续发表．

我们的工作得到中国科学院基金和中国科学院生物物理研究所所长基金的资助，中国科学院生物物理研究所的领导和同志们，尤其是电子显微镜室的同志们给予了支持和帮助，王谷岩和朱蔓萝同志协助论文集的主编工作并进行文字加工，论文集的出版得到科学出版社同志们的支持和帮助，谨此一并表示衷心的感谢！

贝时璋

2003 年 5 月，北京

目　录

序 …… 路甬祥 (i)
前言 …… 贝时璋 (iii)
小鼠骨髓在长期离体培养下的核重建和细胞重建……
…… 张碧辉　苏　苹　赵凤玉　贝时璋 (1)
小鼠骨髓在原位和离体培养下重建核和重建细胞的放射自显影……
…… 张碧辉　苏　苹　赵凤玉　贝时璋 (11)
小鼠骨髓在离体培养下裸核和多核体的形成……
…… 赵凤玉　张碧辉　苏　苹　贝时璋 (18)
小鼠骨髓中裸核和多核体性质和行为的探讨……
…… 张碧辉　苏　苹　赵凤玉　贝时璋 (26)
小鼠骨髓在原位上的红细胞生成 …… 张碧辉　苏　苹　赵凤玉　贝时璋 (34)
小鼠骨髓细胞在长期离体培养下的解体、重建与分化……
…… 张碧辉　苏　苹　赵凤玉　贝时璋 (42)
大豆根瘤菌在根瘤细胞内的繁殖增生 …… 张锦珠　韩行采　贝时璋 (54)
大豆根瘤菌与宿主细胞的相互关系 …… 张锦珠　韩行采　贝时璋 (66)
大豆根瘤内根瘤细胞增殖的电子显微镜观察……
…… 张锦珠　韩行采　张碧辉　贝时璋 (76)
液体培养的大豆根瘤菌繁殖增生的电子显微镜观察 … 张锦珠　韩行采　贝时璋 (85)
对大豆根瘤菌碎片培养的研究 …… 张锦珠　韩行采　王　强　贝时璋 (92)
沙眼衣原体的重建及其与真核细胞的关系……
…… 张锦珠　贝时璋　张友逊　张利华 (98)
真核细胞外沙眼衣原体重建的电子显微镜观察……
…… 张锦珠　贝时璋　张友逊　张利华 (108)
早期鸡胚细胞内卵黄颗粒染色质的提取与电子显微镜分析
…… 李玉安　李　莱　贝时璋 (114)
钠离子对鸡红血细胞染色质结构的影响 …… 李玉安　李　莱　贝时璋 (120)
二价金属离子对鸡红血细胞染色质结构的影响 …… 李　莱　李玉安　贝时璋 (126)
鸡蛋卵黄颗粒染色质结构的凝聚 …… 李　莱　李玉安　贝时璋 (132)
鸡蛋卵黄颗粒染色体状结构的解聚 …… 李玉安　李　莱　贝时璋 (138)
附录:《细胞重建》第一集目录 …… (142)

小鼠骨髓在长期离体培养下的核重建和细胞重建

张碧辉 苏 苹 赵凤玉 贝时璋
（中国科学院生物物理研究所，北京 100101）

摘要 对小鼠骨髓细胞在长期离体培养下核重建和细胞重建进行了研究．首先建立小鼠骨髓细胞液体培养系统，在此基础上用瑞氏染色、孚尔根反应、相差定位摄影以及放射自显影等方法，对培养不同时间的骨髓贴壁细胞进行观察．结果表明，有核重建和细胞重建的现象存在．

关键词 骨髓细胞 液体培养 重建

自 Dexter 等[1,2]建立了小鼠骨髓细胞体外液体培养系统后，为研究造血干细胞（hematopoietic stem cell）在长期离体培养（long-term culture *in vitro*）下生存、增殖与分化提供了良好条件．继 Dexter 后，特别是近年来，由于生物学技术、实验血液学技术以及免疫学等的迅速发展，不少学者在 Dexter 培养系统基础上进行了改进，在此系统中加入各种因子，成功地建立了哺乳动物造血干细胞在体外培养条件下向各种血细胞系统分化的方法[3~6]．

1980 年，Garther 与 Kaplan[7]还成功地建立了人骨髓造血干细胞在体外长期培养的方法．国内朱壬葆、吴祖泽等对造血干细胞的特性、研究技术、造血干细胞的辐射损伤和恢复等进行了大量研究工作，获得了重要科学资料[8~10]1),2)．国内外学者对造血干细胞在体外长期培养下如何生长、增殖、分化，以及造血微环境和各种因素对造血影响等的越来越深入研究[11,12]，为造血型辐射病以及由于造血机能障碍引起的各种血液疾病的防治提供了理论和实验依据．

关于造血干细胞的增殖问题，以往国内外学者都是遵循“细胞分裂是增殖的惟一途径”的观点．本文作者之一于 20 世纪 30 年代初，在甲壳类动物南京丰年虫（*Chirocephalus nankinensis*）二倍体中间性的性转变过程中，观察到细胞解体（cell deformation）和细胞重新形成，即细胞重建（cell reformation）[13,14]．

1970 年以来，对南京丰年虫生殖细胞重建的研究进一步验证了细胞重建现象．此

1）朱壬葆．造血概说．军事医学专题资料，66（89—1）．军事医学科学院情报研究所编印．1989 年 3 月

2）朱壬葆．造血干细胞在放射损伤中的意义．国外军事医学参考资料，第二分册，1972，(3)：1~19

外，对鸡胚早期发育过程、小鼠骨髓、沙眼衣原体以及大豆根瘤的细胞重建都进行了研究，进一步证实细胞重建现象广泛存在[15]. 1988 年，贝时璋主编的《细胞重建》第一集的论文报道了上述研究结果.

本文主要对小鼠骨髓在长期离体培养下贴壁层细胞中的核重建和细胞重建进行了观察. 我们对小鼠骨髓细胞的液体培养采用骨髓细胞单独培养以及骨髓细胞和胸腺细胞复合培养两种方式，在此培养系统中不加任何刺激因子，培养一段时间后用瑞氏染色、孚尔根反应、放射自显影以及活细胞的相差定位摄影等方法观察贴壁细胞的变化，结果发现有核重建和细胞重建现象.

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验动物为 6～8 周龄的昆明种雄性小白鼠，由本研究所动物房繁殖、饲养.

1.2 小鼠骨髓细胞单独培养

按照 Dexter 等人[16]的方法，在无菌条件下取上述小鼠股骨骨髓制成单细胞悬液，以 10^7 个小鼠股骨骨髓细胞悬浮于 8mL 费歇氏培养液（Fischer's medium）（其中含有 20% 的马血清、250U/mL 青霉素、100μg/mL 链霉素，pH 7.2～7.4），移入 60mL 扁平培养瓶中，同时加入一小条盖玻片以便取材. 将培养瓶置于 33℃ 或 37℃ 培养箱中培养，每周更换一半量新鲜的培养液. 为了促进贴壁细胞生长，在第 2 周换液时再加入 10^7 个同种小鼠股骨骨髓细胞，第 3 周换液时贴壁细胞已铺满，第 4 周换液时，将培养瓶中含有非贴壁细胞的培养液全部移出，再重新种入含有 10^7 个同种小鼠股骨骨髓细胞的上述培养液 8mL，以后每周更换一半量的新鲜培养液.

1.3 小鼠骨髓细胞与小鼠胸腺细胞共同培养

按 Dexter 等人[1]的方法，将小鼠的胸腺在无菌下制成单细胞悬液，在每瓶 8mL 上述费歇氏培养液中种入 10^7 个小鼠胸腺细胞并放入一小条盖玻片，置于 33℃ 或 37℃ 培养箱中培养，24h 后每瓶加入 0.5mL 含有 10^7 个同种小鼠股骨骨髓细胞的悬液，以后每周更换一半量新鲜培养液.

1.4 放射自显影

上述两种方式培养，各培养若干时间后，在每个培养瓶中加入甲基-^{3}H-胸腺嘧啶核苷（比度 32Ci/mmol），标记浓度为 1μCi/mL，继续培养 16h 后，取出长有贴壁细胞的盖玻片，用新鲜培养液洗涤 3 次，1∶3 冰醋酸甲醇溶液固定 10min，干后以液体乳胶法涂乳胶（国产核-4 液体乳胶），取出显影、定影，并作 Wright 染色.

1.5 光学显微镜制片

取上述培养瓶中长有贴壁细胞的盖玻片，分别以 1∶3 冰醋酸甲醇溶液、Carnoy 液固定后，作 Wright 染色与 Feulgen 反应.

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

2 结果和讨论

骨髓贴壁细胞对维持骨髓干细胞在体外增殖和分化有着重要作用，为体外造血创造微环境．如果造血微环境生长、发育不良，则无法维持造血干细胞的繁殖与分化，也就无法研究造血干细胞在体外如何生长、发育、分化以及对其如何调控．因此，国内外学者很重视对造血微环境的研究，为了创造一个良好的造血微环境，他们在微环境中加入各种因子以控制造血干细胞的分化．本实验中所观察到的小鼠骨髓贴壁细胞层建立的次序与 Andreoni 等人[17]观察的人骨髓贴壁层生长情况基本相似．首先出现的是分散的梭形的成纤维样细胞（fribroblast-like cells），然后成纤维样细胞不断增殖，在培养瓶底汇集成网状，与此同时，出现多角形扁平状的上皮样细胞（epitheloid cells），最后出现含有脂滴的脂肪细胞（adipocytes）．只有当脂肪细胞生长较好时，一个良好的造血微环境才算是建立起来了，它能维持造血干细胞的生长发育达数周，甚至数月，我们实验室中最久的能维持造血一年以上．液体培养瓶中贴壁细胞对造血干细胞的生长、发育起着如此重要作用，这是由于它在某些方面模拟了体内的造血微环境，因此我们认为，贴壁细胞层对造血细胞的生长、发育、分化起着某些诱导作用．

用相差定位观察与拍摄显微缩时电影时，多次发现贴壁细胞与悬浮液中细胞的位置可以相互转换，即贴壁细胞脱落成为悬浮液中细胞，悬浮液中细胞也可以贴上去成为贴壁细胞，贴壁细胞的繁殖增生是很活跃的．那么，其繁殖的途径究竟如何？是否细胞分裂是其惟一的途径？我们在反复实验中观察到，除了有细胞分裂方式之外，还存在着细胞重建方式，条件是当具备了组成细胞的物质基础以及合适的环境时，就可以通过细胞重建的方式进行繁殖增生．因此，本文所说的核重建和细胞重建（nucleus reformation and cell reformation）与以往国内外学者用拆合技术将细胞核和细胞质分开，根据需要再重组细胞（reconstruction cells）的概念是完全不同的．所观察到的细胞重建现象，与在南京丰年虫（*Chirocephalus nankinensis*）二倍体中间性的性转变过程中观察到的细胞重建现象是一致的[14,15]．贝时璋在“关于细胞重建的研究”一文中明确指出，细胞重建是一个自组织（self-organization）的过程，“只要具备组成细胞的物质基础和合适的环境，在生物体内，或在离体培养的不存在细胞的制备中，都有可能发生细胞重建现象”[15]，贝时璋主编的《细胞重建》（论文集）第一集所收入的论文证实了细胞重建现象在自然界中广泛存在．

将小鼠骨髓细胞在液体培养中生长不同时期的贴壁细胞制片后，经 Wright 染色，在显微镜下观察到在细胞内有大小不一、发育程度不同的核．图版 I-1 为骨髓细胞与胸腺细胞共培 26 周的贴壁细胞，在此细胞中除了细胞原有的 1 个大核外，其周围有大小不等、发育程度不一的核，这些核不是从原有的核分裂而来，而是以细胞质为基础重建而来的，我们称它为细胞内核重建．图版 I-2，为骨髓细胞单培 14 周的贴壁细胞，一个细胞中有 4 个发育程度不同的重建核，它的右上方有 1 个小细胞是重建完成后从大细胞中释放出来的（箭头 A 所示）．图版 I-3 骨髓细胞单培 20 周的贴壁细胞，其中有 4 个重建核．图版 I-4 为骨髓细胞单培 26 周的贴壁细胞，在大细胞中有 4 个发育程度不

同的核，细胞内下方还有3个核状结构（箭头A所示）；从中反映出核在细胞内重建的过程，开始仅是大小不一的核状结构，以后逐步发育成核并且有核膜，由于核的重建是不同步的，所以在一个细胞中看到的重建核常常大小不一、发育程度不一致．在此大细胞的上方有2个发育完善的小细胞（箭头B所示），很可能是在大细胞中重建成小细胞后释放出来的．在拍摄缩时电影时，我们看到这种从母细胞中释放出来的重建细胞常常在母细胞的周围活动，有时贴在其释放出来的部位，机制如何尚不清楚，有待研究．这两个小细胞的胞质中也可看到在重建核（箭头C所示）．

用相差定位摄影观察了细胞在活的状态下核与细胞的重建现象．图版Ⅱ-5显示在两个细胞之间的基质中有1个重建的核（箭头B所示），很幼稚，核膜不清，外面尚无胞浆．图版Ⅱ-6，箭头B示重建的小细胞，在幼稚的核外面有胞浆．这些核和小细胞都是以细胞间的基质（stroma）为基础一步一步逐渐形成的．图版Ⅱ-7，在一个大细胞右下方有3个小细胞，这3个小细胞外面带有少量胞浆（箭头B所示），它是在大细胞中以母细胞胞浆中的物质为基础重建成的，到一定时候从母细胞中释放出来，释放后在母细胞中尚留有空隙（箭头A所示）．以上的核和小细胞从形态结构上似乎与用脱核技术所获得的“小细胞”（minicells）或“微细胞”（microcells）[18~20]相似，但其含意截然不同．图版Ⅱ-8在一个细胞中有5个大小不等的重建核．

为了进一步验证，我们又将骨髓细胞单培不同时间的贴壁细胞作Feulgen反应．图版Ⅲ-9和10为单培17周的贴壁细胞，细胞中有大小不等的核，其发育程度不一致，所以Feulgen反应有强弱之分（箭头A所示）．另外，在胞浆中尚在重建中的核，Feulgen反应虽呈阳性，但是很弱（箭头B所示）．图版Ⅲ-11为单培17周的贴壁细胞，显示2个在母细胞中已重建完善的小细胞正从母细胞中释放出来，小细胞的核Feulgen反应呈强阳性（箭头A所示）．图版Ⅲ-12为单培26周的骨髓贴壁细胞，其中4个大核已发育很好，因此哪个是原来细胞中的核已无法辨认；右上角的3个小核，是比较幼稚的重建核，Feulgen反应也比大核弱（箭头A所示）；在左上方有1个重建的幼稚核带着母细胞中少量胞浆正在离开母细胞（箭头B所示）．

上述各图显示了重建核和重建细胞．那么，这些重建的核和细胞是否具有活性？能否合成DNA？为证实此问题，我们用放射自显影方法，以显示DNA的合成，所用的标记化合物是甲基-^{3}H-胸腺嘧啶核苷．图版Ⅳ-13为共培12周的贴壁细胞，箭头所示的细胞中有2个核，在左边的核，尚无DNA合成，所以没有标记上，右边的核中银颗粒密度很大，显示了DNA合成旺盛．图版Ⅳ-14为单培26周的贴壁细胞，2个重建的核（箭头B所示），银颗粒密度不等，显示了DNA合成程度不一．图版Ⅳ-15～16是单培73周的贴壁细胞，在图版Ⅳ-15细胞中1个重建的小核已有合成DNA的能力（箭头B所示），基质中2个裸核DNA合成旺盛（箭头A所示）．以上表明不论是在细胞内或细胞间基质中重建的核均有DNA合成的能力，因此重建的核和小细胞都是有活性的，能生长和发育．

本实验室以往曾多次报道过以鸡胚和南京丰年虫的卵黄颗粒在原位和离体培养下进行的核重建和细胞重建[21~24]，重建的物质基础是卵黄颗粒或解体的母细胞成分以及母细胞的细胞质．而本实验观察到的是以细胞质为基地或细胞间的基质为基地进行核重建

和细胞重建的.

参 考 文 献

[1] Dexter T M, Allen T D, Lajtha L G, et al. Stimulation of differention and proliferation of haemopoietic cells *in vitro*. J Cell Physiol, 1973, 82: 461～474

[2] Dexter T M, Lajtha L G. Proliferation of hemopoietic stem cell and development of potentially Leukemic cells *in vivo*. in Proceedings of the 7th International symposium on comparative leukaemia research. Copenhagen, 1975

[3] Greenberger J S. Sensitivity of corticosteroid-dependent insulin-resistent lipogenesis in marrow preadipocytes of obese-diabetic (db/db). Nature, 1978, 275: 752 ～754

[4] Radley J M, Rogerson J, Ellis S L, et al. Megakaryocyte maturation in long-term marrow culture. Exp Hematol, 1991, 19 (11): 1075～1078

[5] Whitlick C A, Witte O N. Long-term culture of B lymphocytes and their precursors from murine bone marrow. Proc Natl Acad Sci USA, 1982, 79 (11): 3608～3612

[6] Chertkov J L, Jiang S, Lutton J D, et al. Hemin stimulation of hemopoiesis in murine long-term bone marrow culture. Exp Hematol, 1991, 19 (9): 905～909

[7] Greenberger S, Kaplan H S. Long-term culture of human bone marrow cells. Proc Natl Acad Sci USA, 1980, 77: 4756～4759

[8] 吴祖泽，薛惠华，朱壬葆. 造血干细胞辐射敏感性的比较. 生理学报，1978, 30: 121～127

[9] 吴祖泽，姜学英，沈世人，等. 低剂量率γ线连续照射下造血干细胞损伤性质的研究. 中国科学，1981, (5): 641～648

[10] 吴祖泽，赵士富，吴歧太，等. 造血干细胞与造血微环境辐射损伤的比较研究. 中国科学，B辑，1983, (7): 659～666

[11] Blazsek I, Misset J l, Benavides M, et al. Hematon, a multicellular functional unit in normal human bone marrow: Structural organiztion, hemopoietic activity, and its relationship to myelodysplasia and myeloid leukemias. Exp Hematol, 1990, 18 (4): 259～265

[12] Huang S, Terstappen L W. Formation of haematopoietic microenviroment and haematopoietic stem cells from single human bone marrow stem cells. Nature, 1992, 360: 745～749

[13] Pai S. Diploide Intersexee bei *Chirocephalus nankinensis* Shen. Sci Rec, 1942, 1: 187～197

[14] Pai. S. Ueber die Transformation der Genitalzellen bei den *Chirocephalus*-Intersexen. Sci Rec, 1943, 2: 573～583

[15] 贝时璋，关于细胞重建的研究. 见：贝时璋主编. 细胞重建（第一集），北京：科学出版社，1988, i～iii

[16] Dexter T M, Allen T D, Lajtha L G. Conditions controlling the proliferation of hemopoietic stem cells in *vitro* J Cell Physiol, 1977, 91:335～344

[17] Andreoni C, Moreau I, Rigal D. Long-term culture of human bone marrow I. Characterization of adherent cells in flow cytometry. Exp Hematol, 1990, 18 (5): 431～437

[18] Veomett G, Prescott D M, Shay J, et al. Reconstruction of mammalian cells from nuclear and cytoplasmic components separated by treatment with cytochalasir B. Proc Natl Acad Sxi USA, 1974, 71 (5): 1999～2002

[19] Lucas J J, Szekely E, Kates J R. The regeneration and division of mouse L-cell karyoplasts. Cell, 1976, 7 (1): 115～122

[20] Ege T, Ringer N R, Hamberg H, et al. Preparation of microcells. In Methods in Cell Biology. (Ed. Prescott, DM) New York: Academic Press, 1977, 15: 339～356

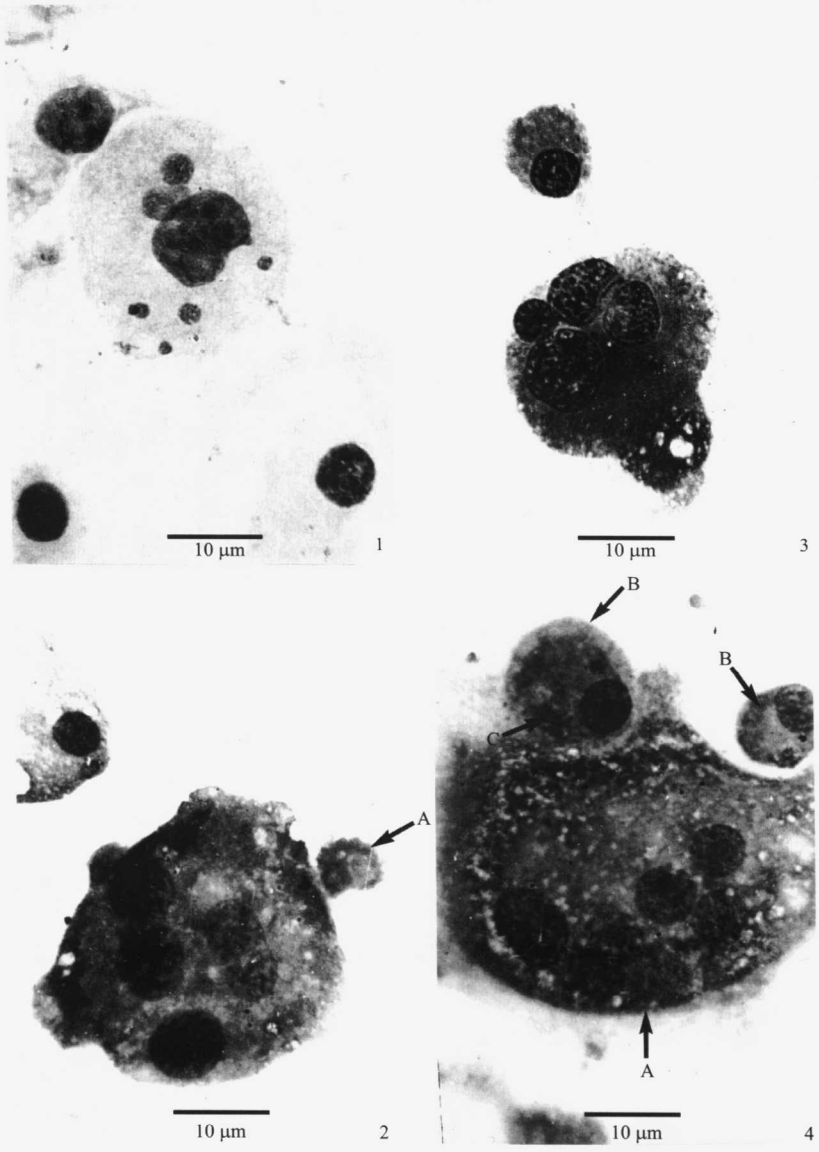
[21] 李公岫，薛吉年，鲍义恒，等. 鸡胚早期发育中的细胞重建和重建细胞的自组装. 见：贝时璋主编. 细胞重建（第一集），北京：科学出版社，1988, 1～10

[22] 李公岫，阎锡蕴，韩行采，等. 鸡胚卵黄囊组织在离体培养下的血岛形成. 见：贝时璋主编. 细胞重建（第

一集），北京：科学出版社，1988，27～36

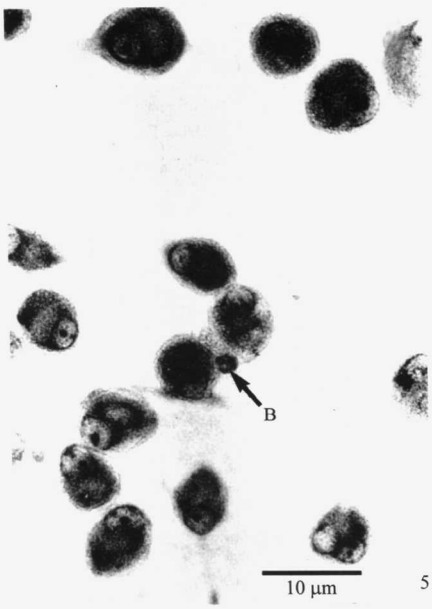
[23] 陈楚楚，郑若玄，曹懋孙，等．南京丰年虫卵黄颗粒在原位上重建细胞的电子显微镜观察．见：贝时璋主编．细胞重建（第一集），北京：科学出版社，1988，99～106

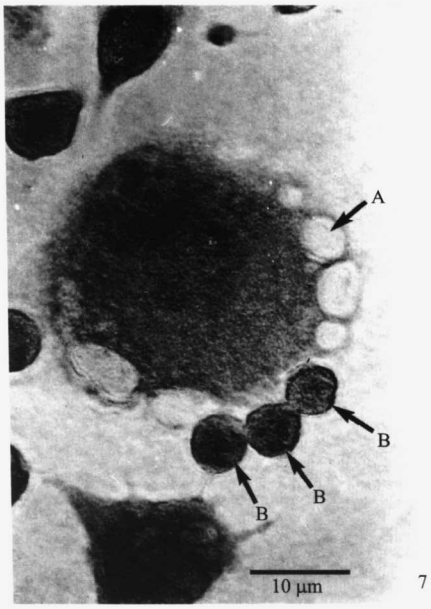
[24] 曹懋孙，张淑英，陈楚楚，等．南京丰年虫卵黄颗粒在原位上和离体培养下重建细胞的比较研究．见：贝时璋主编．细胞重建（第一集），北京：科学出版社，1988，107～112

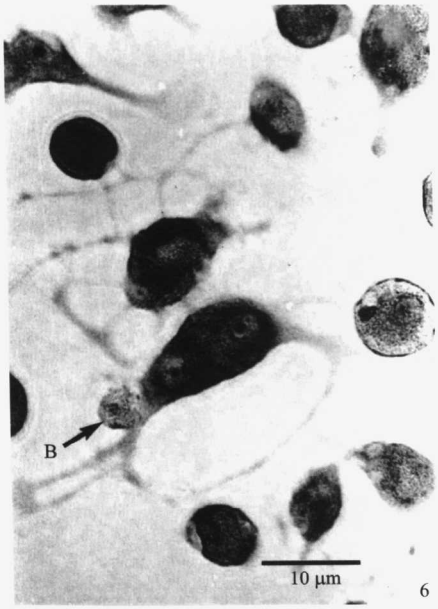


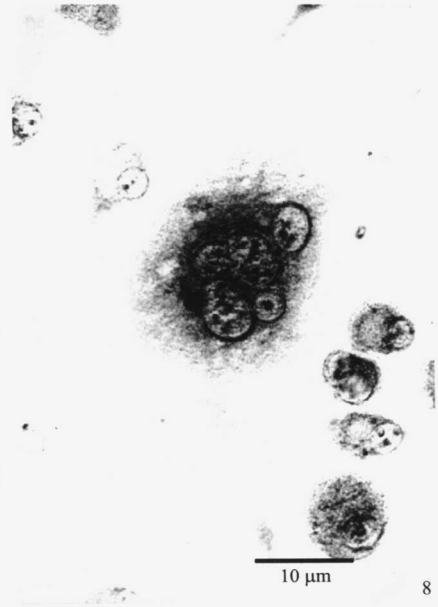
1～4　小鼠骨髓细胞体外液体培养的贴壁细胞的光学显微镜照片，Wright 染色

1. 共培 26 周的贴壁细胞，示细胞内有 1 个大核外，尚有大小不等、发育程度不同的核. 2. 单培 14 周的贴壁细胞，一个细胞内有 4 个发育程度不同的重建核，右上一个小细胞是在大细胞内重建后被释放出来的（箭头 A 所示）. 3. 单培 20 周的贴壁细胞，一个细胞中有 4 个重建核. 4. 单培 26 周的贴壁细胞，大细胞中有 4 个不同发育程度的核，下边还有 3 个模糊不清的核状结构（箭头 A 所示），大细胞上方有 2 个发育完善的小细胞（箭头 B 所示），小细胞内有重建核（箭头 C 所示）









5～8　小鼠骨髓细胞体外液体培养单培 5 周的贴壁细胞，
倒置相差显微镜定位观察摄影照片

5. 显示两个细胞间的基质中有 1 个重建核（箭头 B 所示）. 6. 显示一个重建小细胞（箭头 B 所示）. 7. 一个大细胞的右下方， 有 3 个小细胞是从母细胞内释放出来的（箭头 B 所示）， 释放后在母细胞中留有空隙（箭头 A 所示）. 8. 一个细胞中有 5 个大小不等的重建核

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com