

小鼠淋巴细胞杂交瘤的电融合

周源太 李振刚

(中国科学技术大学生物系, 合肥)

本文报道我们用电场成功地诱导小鼠淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合并筛选得到杂交细胞。

材料与方 法

细胞 对 HAT 敏感的 SP2/0 骨髓瘤细胞用 RPMI 1640 培养基(RPMI1640 培养液加 15% 小牛血清)培养, 淋巴细胞取自活杀的小鼠脾。

实验装置 用八根直径 0.7mm 的不锈钢丝平行穿过容积约 1.5ml 的融合室, 其间距分别为 140、160、180、200、220、240、260 μ m, 按图 1 方式并联作为电极。把它们连接于细胞融合仪(自制)和 XD-2 型交流信号发生器(天津无线电一厂), 用 SR8 型示波器(合肥无线电一厂)监视。

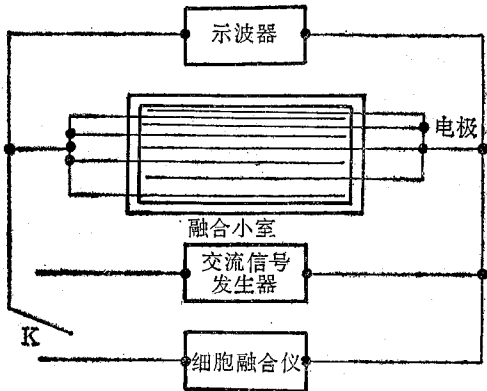


图 1 细胞电融合装置

操作过程(无菌) 将 SP2/0 细胞与脾细胞按 1:10—1:15 的比例混合, 1000r/min 离心 2 分钟; 沉淀用 0.2mmol/L CaCl_2 -0.3mol/L 甘露醇洗涤一次, 离心同前; 沉淀用 0.3mol/L 甘露醇-0.2mmol/L CaCl_2 -0.02% 蛋白酶 XIV (Sigma) 悬浮, 使细胞浓度约为 3×10^6 。悬浮液在 37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 2 分钟后, 加入融合室(室

温 20—22 $^{\circ}\text{C}$)。在电极上加 1MHz、2.8V 的交变电压, 作用 1 分钟使细胞紧密接触后, K 换向加脉宽 20 μ s、幅度 60V 的两个脉冲(两脉冲间隔 1.2S)。融合室置 37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 5 分钟, 用 Hanks 液冲洗出室内溶液, 1000r/min 离心 2 分钟; 沉淀用 Hanks 液和 RPMI 1640 液各洗涤一次, 离心同前。沉淀的细胞用 RPMI 1640 培养基置于培养板上培养(37 $^{\circ}\text{C}$)24 小时后, 换用 HAT-培养基培养七天, 再换用 HT-培养基培养一天, 然后换用 RPMI1640 培养基培养。

结果与讨论

采用不等距电极并联的方法(图 1), 用 20 μ s, 2.3—4.3kV/cm 的直流脉冲成功地诱导了 SP2/0 细胞与脾细胞的融合(图 2, 见图版 III), 整个融合过程的完成约需 30 分钟。在 86 个培养小室内培养融合后的细胞, 从第五天开始, 有 14 个小室相继有细胞开始分裂并持续生长(图 3, 见图版 III)。

Vienken 和 Zimmermann^[1,2]曾采用平行电极, 用 20 μ s、3.5kV/cm 或 4kV/cm 的脉冲诱导了小鼠淋巴细胞与骨髓瘤细胞的融合。他们观察到: 融合过程的完成约需要 20 分钟或 30 分钟, 杂交细胞在融合后三到四天开始分裂。这些结果同我们观察到的相近。

我们在融合介质中加入了低浓度 Ca^{2+} 和蛋白酶, 观察表明, 蛋白酶和低浓度 Ca^{2+} 能促进细胞的电融合, 提高细胞的抗电场能力。

参 考 文 献

- [1] Vienken, J. and Zimmermann, U.: *FEBS Lett.*, 1982, **137**, 11.
- [2] Vienken, J. and Zimmermann, U.: *FEBS Lett.*, 1985, **182**, 278.

[本文于 1988 年 4 月 14 日收到]

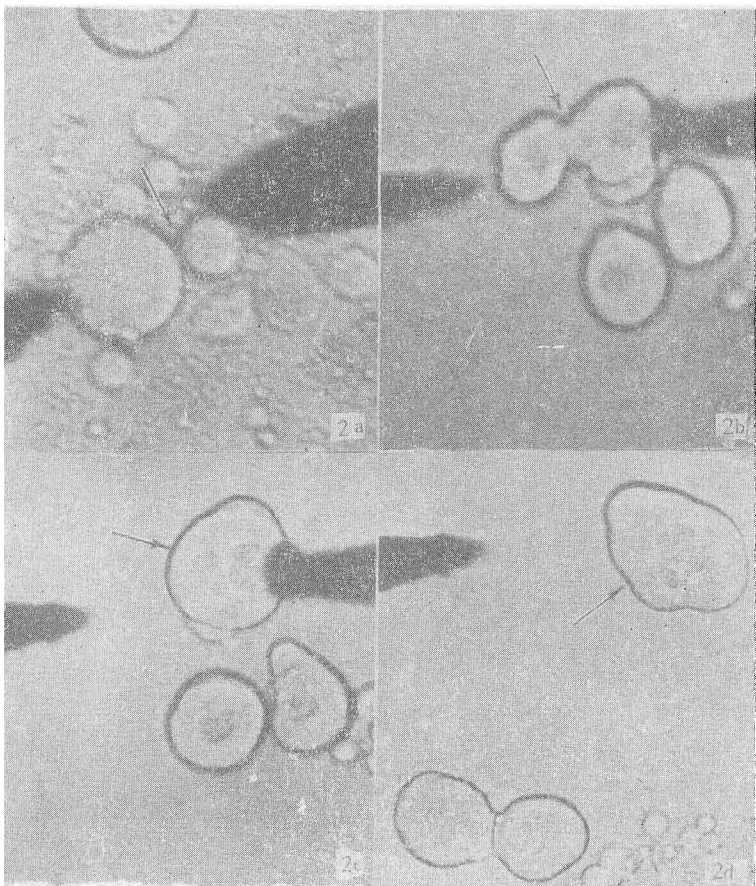


图 2 两个金鱼囊胚细胞电融合的过程

(a) 示两个细胞紧贴挤压；(b) 细胞膜紧贴面积增大 (c) 加脉冲后瞬时穿孔融合，示细胞核尚未融合；
(d) 示细胞核渐次融合

照片是在 olympus 双筒解剖镜下拍摄，物镜 20×，相机 2.5×=50× 底片囊胚细胞直径为 2mm，照片囊胚细胞直径为 1.5cm，放大 7.5 倍，照片囊胚细胞直径放大为 375 倍

周源太等：“小鼠淋巴细胞杂交瘤的电融合”一文的图 2 与图 3

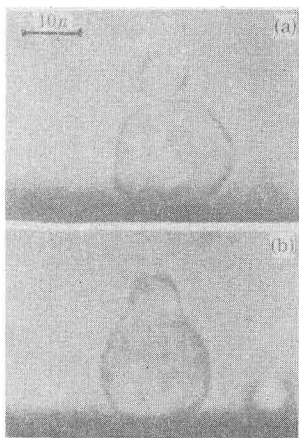


图 2 SP2/0 细胞与脾细胞的电融合过程
(a) 融合前；(b) 融合后

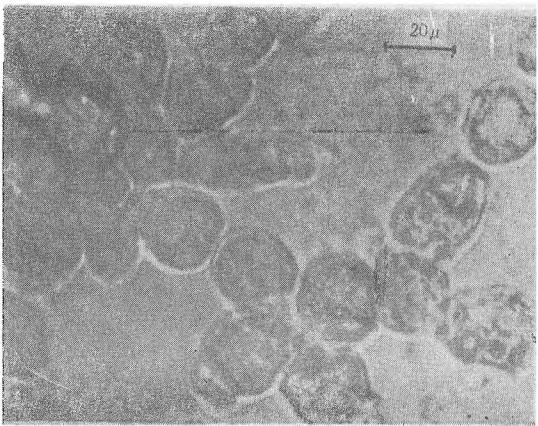


图 3 生长之中的杂交细胞(融合后 21 天)