

草鱼尾鳍组织二倍体细胞系 GCCF-2 的建立及其部分生物学特性的分析*

魏彦章 陆仁后 白国栋

(中国科学院水生生物研究所, 武汉)

ESTABLISHMENT OF GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLUS*) CAUDAL FIN TISSUE DIPLOID CELL LINE: GCCF-2 AND ANALYSIS OF SOME OF ITS BIOLOGICAL CHARACTERISTICS

Wei Yanzhang Lu Renhou and Bai Guodong

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan)

Key words Caudal fin tissue, diploid cell line, grass carp reovirus

我们从 1983 年 9 月至 1985 年 1 月, 将草鱼尾鳍组织细胞在体外培养 17 个月, 传代 100 次, 确立为建立的细胞系 (established cell line), 命名为 GCCF-2。

1. 细胞系的建立 无菌获取草鱼尾鳍组织, 采用组织块培养法置 TC-199 培养液中进行初代培养。20 代之前培养液中小牛血清含量为 20%; 20 代之后, 小牛血清含量降为 15%。培养温度为 28—30℃。1:4 传代培养, 4—5 天传代一次。

2. 细胞形态 由于在初代培养及以后的传代培养过程中未加任何选择, GCCF-2 为上皮样细胞和成纤维样细胞的混合细胞系。但上皮样细胞占多数。绝大多数细胞为单核, 二、三及多核细胞很少。

3. 细胞生长速度 以 10^5 细胞/ml 的浓度接种培养, 第二天细胞数即有所增加, 第五天达最高峰, 约增加五倍。GCCF-2 细胞 1—5 天的细胞倍增时间为 51.05 小时。细胞培养至 24 小时, 分裂指数最高, 为 30.04%, 第六天为 1.98%。可见

GCCF-2。生长旺盛, 且具有明显的接触抑制 (图 1,2)。

4. 染色体数目分析 在培养过程中, 我们分别对第 10, 20, 40, 63, 76 和 90 代细胞做了染色体数目分析。结果表明, 染色体数 $2n = 48$ 细胞所占比例分别为 81.8, 83.1, 77.1, 73.6, 78.7 和 86.8% (表 1)。根据 Jean (1977)^[1] 的二倍体细胞系的标准 ($2n$ 细胞 % $\geq 75\%$), GCCF-2 为二倍体细胞系。

5. 细胞周期 将 GCCF-2 细胞在含有 10—15 微克/毫升 BrdU 培养液中暗培养 48 小时和 72 小时, 收获细胞制成染色体标本。按李康等 (1983)^[2] 的硫堇-UV-Giemsa 法进行姐妹染色单体分化染色, 然后分别统计两个实验组中进入第一、二和三细胞周期的细胞所占比例, 按 Crossen 等 (1977)^[3] 和张锡然等 (1984)^[4] 的方法测得, GCCF-2 细胞周期约为 21—33 小时。

* 本文承蒙蒋一珪副研究员指导; 王迎喜帮助病毒测定, 在此一并致谢。

1985 年 11 月 18 日收到。

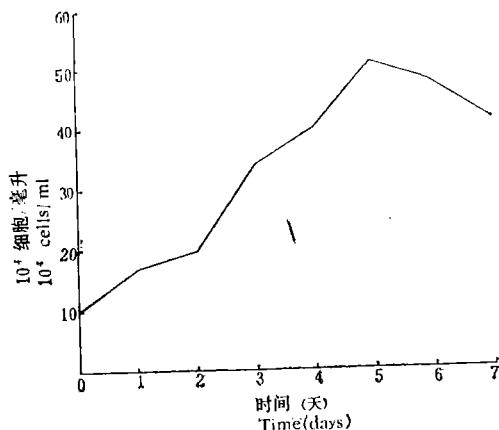


图1 GCCF-2 细胞生长曲线
Fig. 1 Growth curve of GCCF-2 cells

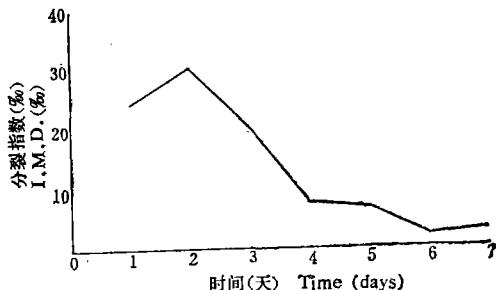


图2 GCCF-2 细胞分裂指数曲线
Fig. 2 Curve of indexes of mitotic division of GCCF-2 cells

表1 GCCF-2 细胞中期染色体数目
Tab. 1 Number of metaphase chromosomes of GCCF-2 cells

分裂相数 ²⁾	染色体数 ¹⁾															2n%							
	31	35	36	38	39	40	42	43	44	45	46	47	48	49	50	52	70	77	86	92	94	95	96
代数 ³⁾																							
10		1			1		4	1	1	3	4	8	1						1	2		81.8	
20	1		1							4	2	7	9	1	1				1	1	4		83.1
40										4	5	5	4	2	1								77.1
63				1	3	1	1	4	2	2	1	6	4	1	1	1	2	1	1	2		73.6	
76					1			2		7	4	7	4	1			1		1	4		78.7	
90						1	1	1	1	3	3	9	2	1					1	3		86.8	

1) Number of chromosomes; 2) Number of metaphases; 3) Number of passages.

6. 细胞的常温保存 在培养过程中, 我们将细胞分别培养在 28 和 20℃ 条件下, 定期检查传代后细胞的生长情况。结果表明, 在 20℃, 不更换培养液, GCCF-2 细胞可放置两个月(个别可放四个月), 传代后生长正常。这一特性对鱼类细胞的短期保存和运输具有一定意义。

7. 病毒敏感性 本所鱼病研究室提供的草鱼呼肠弧病毒 (grass carp reovirus, GCRV) 感染 GCCF-2 细胞, 发现 10^{-3} 稀释组 3 天出现 CPE。感染七天收获病变细胞, 制成切片, 电镜下见到了 GCRV 颗粒。可见 GCCF-2 是对 GCRV 敏感的细胞系。

参 考 文 献

- [1] 李康等, 1983。用改良的姐妹染色单体分化染色法对白鲢肾细胞增殖动力学和化学药品诱发姐妹染色单体交换频率的初步研究。细胞生物学杂志, (3): 26—30。
- [2] 张锡然等, 1984。毛冠鹿 (*Elaphodus cephalophorus*) 肺细胞株的建立及其生物学特性研究。动物学研究, 5(1): 71—76。
- [3] Crossen, P. E. et al., 1977. Analysis of human lymphocyte cell cycle time in culture measured by sister chromatid differential staining. *Exp. Cell Res.* 104(2): 453—457.
- [4] Jean H. P., 1977. Medical cytogenetics and cell culture. 2nd ed. p. 289. Lea and Fehiger.