

简 报

用乳酪蛋白水解液代替乳白蛋白 水解物培养鸡胚細胞的报告

王用楫 顾佩韦 謝彦博 馬文信* 孙 勉 孙盛豪* 周宁珍

(卫生部生物制品研究所,北京)

組織培养生长液的成分中大都含有乳白蛋白水解物^[1]。鸡胚单层細胞培养中亦多采用乳白蛋白水解物作为細胞营养的主要来源^[2,3,4]。Lepine氏曾使用乳酪蛋白水解物,佐以其他成分培养HeLa細胞^[5,6]及猴腎細胞^[6,7]。我們以胰酶水解乳酪蛋白,并以所制得的水解液培养鸡胚細胞。本文就乳酪蛋白水解液的制备方法及用以培养鸡胚細胞的結果簡述如下。

乳酪蛋白水解液的制备

1.制备方法:在成都生物制品研究所制备方法的基础上,加以改进,以所制得的水解液曾用于制造組織培养乙型脑炎疫苗^[8]。水解液制备的操作过程如下。

(1) 选用优质的国产乳酪蛋白,在乳鉢內研細至顆粒直径約 0.1 厘米。

(2) 取研碎的乳酪蛋白 16 克,加蒸餾水 200 毫升;然后徐徐加入 2N NaOH 4.0 毫升,边加边搖,在 46°—48°C 溫箱中保溫 5—10 小时,使其溶解,即成为 8% 的溶液。

(3) 待乳酪蛋白基本溶解后,加入国产胰酶(活力单位 50) 2.0 克,搖匀,加 2N NaOH 調 pH 至 8.2—8.8 (通常用量为 8 毫升),加入氯仿 1 毫升,搖匀,塞上玻璃塞,包上牛皮紙,置 46°—48°C 溫箱中进行消化。

(4) 消化进行 16—24 小时后,再加入 2N NaOH 調 pH 至 8.2—8.8,通常用量为 5 毫升,繼續消化,每天搖匀两次。

(5) 消化 10 天**后取出,加入 1N HCl 調 pH 至 6.5—7.0 (通常用量为 20 毫升)。

(6) 消化完毕,将水解液移放冰箱中,以滤紙

过滤,开始时滤液不清,可反复过滤,至清亮透明。水解液微带黃色。

(7) 水解液以 9 磅蒸气灭菌 10 分钟,置 4°C 冰箱中保存备用。保存期間如出現酪氨酸結晶,仍可使用,但应搖匀。

2.化学分析結果:1959 年 5—12 月,共制备乳酪蛋白水解液 21 批。其中 16 批的总氮量、氨基氮量等經过了测定,其結果見表 1。

表 1 乳酪蛋白水解液的化学分析結果
(按生物制品生化操作規程測定)

分析項目	平均数值	变动范围
总氮量(毫克/毫升)	9.25	8.91—10.02
氨基氮量(毫克/毫升)	4.05	3.77—4.39
蛋白氮量(毫克/毫升)	0.07	0—0.20
氯化鈉量(%)	0.45	0.42—0.49
总固体量(%)	7.49	7.37—7.56
氨基氮/总氮(%)	43.8	38.2—46.4

从表 1 可見,水解液的水解程度及化学成分都相当恒定,氨基氮平均占总氮的 43.8%。

乳酪蛋白水解液代替乳白蛋白水解物 培养鸡胚細胞的試驗結果

1.乳酪蛋白水解液的用量試驗:配制 4 种生长液,每 100 毫升中含有定量小牛血清 2.0 毫升,抗菌素原液(每毫升含青霉素 10,000 单位及链

* 成都生物制品研究所

本文 1963 年 2 月 19 日收到

** 实际上消化 24 小时后水解程度已达高峯。在 24 小时取样分析氨基氮含量为 4.0 毫克/毫升,以后每日取样分析至第 10 日为止,氨基氮含量未再增加。据此水解時間可縮短至 1—2 日。

霉素 10,000 微克) 1.0 毫升, 水解液用量分别为 0.5、1.0、2.0 及 4.0 毫升, 余量以 Hanks 氏液补足, 用来培养鸡胚细胞。多次试验证明: 水解液的用量如为 2.0 或 4.0 毫升时, 细胞即可规则地生长成片, 单个细胞大都是梭形。

2. 乳酪蛋白水解液与乳白蛋白水解物培养鸡胚细胞的比较试验: 我们用 2.0% 乳酪蛋白水解物(即每 100 毫升生长液中加 2.0 毫升) 及 0.5% 乳白蛋白水解物(即每 100 毫升生长液中加 0.5 克) 平行地培养同批分散的鸡胚细胞。先后做了 5 次比较, 证明两者均可使细胞在 48 小时内生长成片, 单个细胞在形态学上也无区别。另外, 在每次生长成片的细胞上, 同时接种乙型脑炎病毒, 置 37°C 继续培养 48 小时, 取样以小鼠脑内接种法进行比较病毒繁殖的毒力滴度。结果表明, 在不同生长液所培养的细胞中, 病毒的毒力滴度范围也

很一致。

参 考 文 献

- [1] Melnick, J. L.: in Francis' Diagnostic Procedures of Viral and Rickettsial Diseases, 2nd Ed., p. 97. 1957.
- [2] McCollum, R. W. and Foley, J. F.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **94**:556, 1957.
- [3] Blatt, P. W. and Work, T. H.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **96**:213, 1957.
- [4] Kissling, R. F.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **96**: 290, 1957.
- [5] Lepine, P., Hizewicz, P. Daniel, Ph. et Paccaud, M.: *Ann. Inst. Past.*, **90**:654, 1956.
- [6] Лепин, П.: *Вопросы Вирусологии*, 323, 1958.
- [7] Lepine, P., Daniel, Ph., Pelmont, I. et Hizewicz, P.: *Ann. Inst. Past.*, **92**:567, 1957.
- [8] 王用棣、顾佩韦、孙 勉、马文信、周宁珍、孙盛豪、李美容: *微生物学报*, **10**: 31—38, 1964.