DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.04.042

第16卷第4期 1994年8月 第三军医大学学报 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Vol, 16, No.4 Aug. 1994

科研简报

成年树鼩实验感染丁型肝炎病毒的研究

A study on the transmission of hepatitis D virus to adult tupaia

李奇芬 丁明权 王 洪 毛 青 吴纯清 郑 红 袁良平 (第三军医大学西南医院传染科) 630038

1979年发现丁型肝炎病毒(HDV)以来,研究进展迅速。但亟待解决的问题之一是建立一种经济易得,对人乙型肝炎病毒(HBV)易感并能感染HDV的动物模型,以便对丁型肝炎的发病机理及药物筛选等进行深入研究。

树鼩(Tupala,Tree Shrew)属低等灵长类动物,盛产于我国南方各省,文献报告树鼩对HBV易感,我们在证实树鼩可感染HBV基础上进行树鼩感染HDV的探索,并已取得初步结果。

1. 捕获的野生树鼩(由昆明动物所提供,下同)自然状态下血清HBsAg携带率为12.5%(6/48只),人工饲养健康成年树鼩以HBV DNA阳性人血清尾静脉接种,3～4周后15/20只(75%)HBsAg转阳,持续3～5周,部分血清HBV DNA亦阳性,证实树鼩确对人HBV易感。

2. 以HBV DNA阳性和HDV RNA阳性患者血清,同时接种于成年健康树鼩各0.2 ml/只、8/13只树鼩血清HBsAg、HDAg和抗HD分别在1～3周,2～4周和3～7周转阳,各持续1～6周,5/9只树鼩血清和/或肝内检出HDV RNA。

3. 9只血清HBsAg阳性树鼩再接种HDV RNA阳性血清4周后,6/9只血清HDAg阳性,持续1周转为抗HD阳性,同时血清及肝内HDV RNA阳性。

4. 取同时感染HDV/HBV获阳性树鼩作为第一代HDV感染树鼩,以其血清传代感染4只树鼩(第二代感染),再以第二代HDV阳性树鼩接种另一批树鼩(第三代),经观察第二代3/4只,第三代4/5只树鼩血清HBsAg、HDAg和抗HD相继转阳,2只第三代感染树鼩血清检出HDV RNA,同时肝内有HBsAg和HDAg阳性信号,提示HDV可在树鼩间传代感染。

经同时、重叠或传代感染的树鼩除HDV感染标记可阳转外,感染的树鼩血清ALT可有程度不等的升高,肝组织有炎细胞侵润、变性及坏死,所见病理改变与文献报告的黑猩猩病理变化一致,提示树鼩不但可作为HDV感染动物模型,且有作为丁型肝炎动物模型的可能。

关键词 HDV感染;动物模型;树鼩

中图法分类号 R373.21

丙型肝炎病毒核心抗原单克隆抗体杂交瘤细胞株的建立及初步鉴定

Production and primary identification of the hybridoma cell lines of monoclonal antibodies against hepatitis C virus core antigen

王 阁 李梦东 郝 飞 胡大荣 姚仲寅* 崔大敷** (第三军医大学西南医院传染科) 630038

自1989年获得丙型肝炎病毒(HCV)克隆并测出HCV RNA的大部分核苷酸序列以来,国外学者已用HCV重组抗原或合成肽制备抗HCV单克隆抗体。近来我们用HCV核心区合成肽抗原成功地建立了单克隆抗体杂交瘤细胞株并进行了初步鉴定。

本实验用HCV核心区合成肽抗原CP_9、CP_{10}耦联的牛血清(BSA)免疫BALB/C小鼠,取其脾细胞与骨髓瘤细胞SP2/0按常规的杂交瘤技术进行融合。融合的细胞经培养后作杂交瘤细胞筛选,将CP_9、CP_{10}和BSA分别包被,用间接ELISA法筛选抗BSA阴性而抗CP_9或抗CP_{10}阳性细胞克隆并进行克隆化,经有限稀释法克隆3代后获得一株稳定分泌抗CP_{10}单克隆抗体的杂交瘤细胞株$3E_7$。用抗CP_{10}阳性杂交瘤细胞进行BALB/C小鼠腹腔培养制备腹水并进行杂交瘤细胞的染色体分析,同时用ELISA法测定杂交瘤细胞培养上清和腹水中单克隆抗体的效价。用饱和硫酸胺沉淀法提纯杂交瘤细胞无血清培养上清及诱生的BALB/C小鼠腹水并进行抗体的Ig型的鉴定,以特异性中和抑制试验检测抗CP_{10}的特异性。

经筛选检测后$3E_7$杂交瘤细胞株对CP_9及BSA均不出现反应,而仅CP_{10}呈阳性反应,杂交瘤细胞培养上清抗CP_{10} ELISA测定效价为1∶320,其诱生BALB/C小鼠腹水抗CP_{10}测定效价达1∶12 800。杂交瘤细胞分泌抗CP_{10}具有良好稳定性,在96 h抗体效价达到高峰,特异性中和抑制试验显示CP_{10}能特异地中和该单克隆抗体,抑制其酶反应。经琼脂扩散试验证明$3E_7$杂交瘤细胞株所分泌的抗CP_{10}为IgG型抗体。染色体数目为106条。

有关应用合成肽制备HCV核心抗原单克隆抗体在国内尚未见报道。HCV核心区高效价单克隆抗体的成功制备,有利于建立血清和组织中HCV抗原的检测方法,研究HCV感染的发病机理,具有良好的应用前景。

关键词 HCV合成肽;单克隆抗体;杂交瘤细胞株

中图法分类号 R392.11

* 河南医科大学医学科学研究所

** 上海生化所

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net