

· 研究简报 ·

斜纹夜蛾传代细胞系的建立及病毒感染研究

谢伟东 曲士芮 庞义 王琦章 蒲蛰龙
(昆虫学研究所)

摘 要

以斜纹夜蛾卵建立ZSU-SL-1细胞株,细胞形态以球形及纺锤形为主,染色体数为56~260,多数细胞为多倍体;经20℃和27℃的生长曲线测定,细胞加倍时间为100~144小时。本细胞株对斜纹夜蛾和粉纹夜蛾两者的核型多角体病毒敏感。

关键词 斜纹夜蛾, 细胞系, 核型多角体病毒, 敏感性

斜纹夜蛾(*Spodoptera litura*)是我国粮棉经济作物及蔬菜的重要害虫之一。1975年以来,我们开始应用核型多角体病毒防治斜纹夜蛾的研究^[1]。近年来,以昆虫杆状病毒为载体,以昆虫虫体和昆虫细胞为受体的基因工程,日益得到各方面的重视,本文报道斜纹夜蛾传代细胞系的建立及病毒感染试验,为用细胞培养生产病毒制剂及建立斜纹夜蛾核型多角体病毒载体系统提供基础。

1. 材料与方 法

1.1 供试昆虫 斜纹夜蛾由本研究室人工饲养繁殖。

1.2 细胞建株及传代细胞培养 采集新鲜的卵块,置于27℃培养24小时,经2%次氯酸钠及70%乙醇分别消毒后,以无菌水和TC-100培养基分别冲洗三次,将卵捣碎,取悬浮的细胞液转入培养瓶中,置于25℃下培养。待细胞长成单层,以1:4的比例进行传代,开始每隔20天传一代,从第15代起每隔6~10天传代一次。

1.3 细胞培养液 TC-100^[2]补加10%胎牛血清,从第10代开始,改用补加10%小牛血清。

1.4 病毒悬浮液的制备 选择4龄健康幼虫,用斜纹夜蛾核型多角体(10^6 多角体/ml)混入人工饲料内,感染4~5天,取血淋巴,以2200rpm离心15分钟,取上清液,以1:10比例加入细胞培养液中,0.48μm微孔滤器过滤除菌备用。粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*)核型多角体病毒直接取细胞培养液作为病毒悬浮液。

本文1987年9月25日收到

1.5 染色体分析 以0.3~0.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 秋水仙素处理第24代斜纹夜蛾细胞8~20小时左右,经冲洗,用0.075MKCl低渗处理10~15分钟,然后,用甲醇-冰乙酸固定,经Giemsa液染色,用光学显微镜观察。

2. 结果

2.1 建系及传代 来源于斜纹夜蛾胚胎的细胞悬浮液,在24小时左右即大部分贴壁,经4周的静止期后,开始分裂生长,逐渐形成各种形态的细胞(图版,1),所有细胞都贴壁生长。经二个月生长后,进行第一代传代,开始每隔20天传代一次,至15代后,可稳定传代,即6~10天传一次。目前,已传53代,细胞生长稳定。该细胞系命名为ZSU-SL-1细胞系(图版,2)。

2.2 细胞生长测定 采用第30代的SL-1细胞悬浮液,分别置于10个细胞瓶培养,并分别于27 $^{\circ}\text{C}$ 或20 $^{\circ}\text{C}$ 培养,每天取样观察,连续计算细胞数共10天。开始细胞浓度为 1.4×10^6 细胞/ml。SL-1细胞系群体倍增时间为144小时。在27 $^{\circ}\text{C}$ 与20 $^{\circ}\text{C}$ 下培养的SL-1细胞生长曲线区别不大(图1)。

2.3 染色体分析 染色体呈短棒状,没有明显的外型特征,染色体数目56~260条不等,与其他鳞翅目染色体相似^[3](图版,3),其中多数为多倍体细胞。

2.4 ZSU-SL-1细胞系对核型多角体病毒的敏感性 生长旺盛的细胞接种斜纹夜蛾核型多角体病毒或粉纹夜蛾多角体病毒悬浮液。ZSU-SL-1细胞在感染斜纹夜蛾第24~48小时与正常细胞无明显差异;感染后72~96小时后,细胞核开始膨胀,并个别出现有多角体。感染后5~7天,多数细胞核内多角体已形成,部分细胞破裂,多角体释放到培养基中。(图版,4)ZSU-SL-1细胞系在感染粉纹夜蛾核型多角体第二天后,细胞就出现病变,细胞放出园形小球形颗粒(3~4 μm 左右),随着感染日益严重,培养基中小球形颗粒不断增加,最终细胞崩解。

3. 讨论

昆虫细胞的原代培养,生长比较缓慢,一般需要6~12个月,本研究利用胚胎细胞进行培养,其培养基适合细胞生长,所以能在较短时间内形成细胞系。一般认为建立昆虫细胞系需经三个时期,即生长缓慢期,生长危险期,生长稳定和旺盛期。本细胞系的建立过程,生长缓慢期较短,不经生长危险期而最终培养为细胞系。

原代及早期传代培养中,细胞形态和大小不一,但随着传代次数的增加,某些类型的细胞消失,细胞形态趋于稳定和一致,类似情况可见前人报道^[4,5]这可能与培养基条件及细胞来源有关。

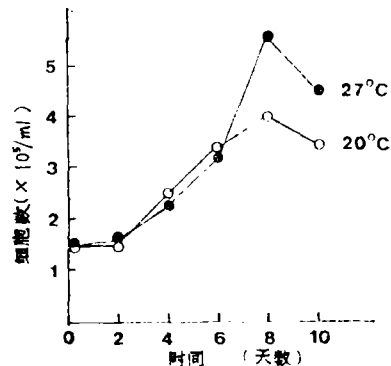
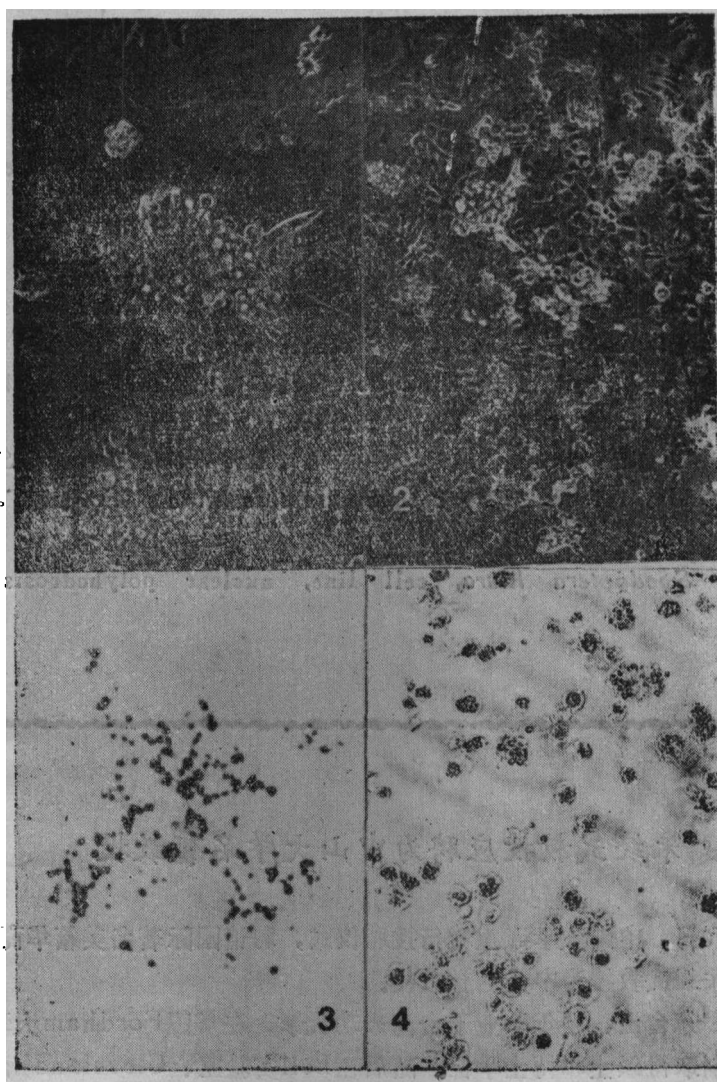


图1 斜纹夜蛾ZSU-SL-1细胞系的生长曲线



图版 1 ZSU-SL-1第6代细胞 ×400
 2 ZSU-SL-1第20代细胞 ×400
 3 ZSU-SL-1第24代细胞的染色体
 4 感染细胞、核内充满了多角体 ×800

参 考 文 献

- [1] 蒲蜚龙等, 昆虫病毒的研究, 科学文献出版社, 1982, 1—41.
 [2] C. R. Garliner and H. J. Stookdale, *J. Invertebr. Pathol.*, 25(1975), 363—370.
 [3] E. P. Marks, *Ann. Rev. Entomol.*, 25(1980), 73—102.
 [4] K. R. Tsang *et al.*, *J. Invertebr. Pathol.*; 46(1985). 180—188.
 [5] W. D. Gelernter and B. A. Federici, *J. Invertebr. Pathol.*, 4(1986), 199—207.

Establishment of a Cell Line from *Spodoptera litura* and its Susceptibility to Nuclear Polyhedrosis Viruses

Xie Weidong Qu Shirui Pang Yi Wang XunZhang Pu Zhelong

Abstract

A cell line, ZSU-SL-1, initiated in September, 1986, from embryos of cotton leafworm, *Spodoptera litura* was in 44th passages in September, 1987. The cell line consists of single, epithelial-like cells that are polyploid with chromosome numbers ranging from 56 to 260. The growth rate was determined at 27°C and 20°C, and doubling time was between 100-144 hr. The cell culture of *Spodoptera litura* can be heavily infected with both *Spodoptera litura* NPV and *Trichoplusia ni* NPV.

Keyword *Spodoptera litura*, cell line, nuclear polyhedrosis viruses, susceptibility

· 简讯 ·

朱经武教授应聘为中山大学名誉教授

1988年10月10日,中山大学隆重举行授聘仪式,聘请国际著名美籍华裔物理学家、杰出的超导专家朱经武教授为中大名誉教授。

朱经武祖籍广东台山,早年毕业于台湾成功大学,在美国Fordham大学和加州大学圣迭戈分校分别取得硕士和博士学位。随后在Bell实验室、Cleveland州立大学和休士敦大学任职。目前,在出任美国休士敦大学教授的同时,他还兼任美国国家自然科学基金委员会应用固体物理学部主任、美国太空署太空商业化中心主任、贝尔实验室、Los Alamos国家研究所、美国太空署马歇尔航空中心顾问、美国物理学会 Fellow及台湾中央研究院院士、中国科学院物理研究所名誉研究员等职务。

朱教授长期致力于磁学、超导、低温高压物理等方面的研究工作。近年在高温超导研究中,他获得了巨大成功而为举世瞩目。他曾荣获美国总统国家科学奖、世界新材料奖、美国国家科学院Constock奖、纽约科学院奖等。

朱经武教授十分热心发展中华民族的科学和教育事业,他曾多次访问中国,对中山大学怀有深厚的感情,对我校教学和科研给予了极大的支持和帮助,特别是为中大物理系的发展和建立低温高压实验室做了极为有益的工作。

(黎启业)