

杂种细胞

N. R. 林格兹 著
R. E. 萨维奇



内 容 简 介

全书分十六章,前几章为历史及方法之导介,其余为阐述细胞杂交在生物学领域中的应用。书中旁证博引、内容丰富、深入浅出,对帮助我们了解国外研究概况及推动我国在细胞杂交方面的研究颇有助益。

可供细胞生物学、肿瘤生物学、遗传学、生物化学和组织培养的研究工作者以及大专院校、生物系师生参考。

N. R. Ringertz R. E. Savage
CELL HYBRIDS
Academic Press, 1976

杂 种 细 胞

N. R. 林格兹 R. E. 萨维奇 著

陈瑞铭 叶秀珍 译
沈鼎武 陆荣华

陈瑞铭 校

责任编辑 吴浩源

科学出版社出版
北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1982 年 6 月第 一 版 开本: 787×1092 1/32
1982 年 6 月第一次印刷 印张: 13
印数: 0001—5,550 字数: 290,000

统一书号: 13031·1905

本社书号: 2582·13—10

定价: 2.00 元

译者序

细胞杂交是近廿年来崛起的一项细胞工程学技术。六十年代初,法国的 Barski 研究组首先在两种不同类型细胞的混合培养物中获得自发的融合细胞。嗣后, Ephrussi 等证实了他们的工作。在差不多同一时期内,日本的冈田善雄意外地发现仙台病毒可以诱发体内艾氏腹水癌细胞彼此互融,从而为人工诱发体细胞杂交奠定了方法学基础。英国的 Harris 和瑞典的 Klein 等研究组进一步发展了冈田的工作,广泛地研究了由灭活仙台病毒介导融合的异种杂种细胞,取得了显著成绩。在不到20年的时间里,通过各国有关实验室的相继努力,细胞杂交的研究报告与日俱增,成为目前细胞生物学中十分活跃的领域之一。方法学不断革新,融合因子已转向多样化、化学化发展。技术上已能构成所谓种内、种间的杂种细胞,甚至已突破了植物界与动物界的疆域,植物细胞的原生质体与人的宫颈癌 HeLa 细胞杂交亦获得了成功。应用范围已广及生物学的各个分支学科,以及医学生物学中的肿瘤学、免疫学、病毒学和老年学等,特别是在绘制人类染色体基因图方面,出现了令人鼓舞的进展。

晚近,细胞拆合技术的建立,已不仅能把完整细胞的核与胞质在生活状态下分开,并借助细胞杂交的知识完成了两者的重组,重新构成完整细胞。甚至可以制备只含少数几个乃至一个染色体的微细胞,或者直接从分裂中期细胞分离染色体,导入到无核的胞质体内,均已成为可能。应用人造膜囊——脂质体或红血球外壳作细胞内的显微注射,也正在发

展中。这些成就,对于阐明真核细胞内基因表达及其调节控制、基因定位、核质相互作用等诸方面细胞生物学领域内的重大课题,以及生物育种、防治人类先天性遗传疾患、乃至恶性肿瘤等,产生了深远的影响。

综合上述认识,我们翻译了瑞典 N. R. Ringertz 与美国 R. E. Savage 合编的杂种细胞一书。作者多年来从事细胞杂交研究,在细胞重组方面成绩尤为卓著。本书中,作者旁证博引,系统地介绍了近十几年来的进展。全书共分十六章。前面几章偏重于历史与方法学之导介。其余的大部分章节描述了细胞杂交在生物科学领域内的应用。涉猎面十分广泛,内容深入浅出。最后一章讨论了植物细胞的杂种。书后附编的小字典共收录术语183条,解释尚浅近贴切。所有这些,对于我们了解国外有关细胞杂交研究的概貌,无疑是有益的。期望通过本书的出版,能引起大家的重视,并借助这一新兴的细胞工程学手段,从各种不同途径进行探索,推动基础理论与实际应用方面的进展,为实现社会主义祖国四个现代化作出应有的贡献。

限于水平,译文不免有错误、欠妥之处,敬希读者不吝指正。

杨正红同志为本书编排索引,特此志谢。

陈瑞铭

1979年2月于上海

绪 言

诱导不同来源的人类、动物以及植物细胞融合以产生细胞杂种的技术,已很快地成为广泛采用的一种技术,在体细胞遗传学 and 实际领域诸如医学和农业上获得重要的应用。在本书中,综述了细胞融合的方法学并研讨了杂交技术的主要应用和当前的结果。由于近几年来,有关体细胞杂种工作的文献数量迅猛增加,因而我们只能着重注意其主要发展而略去其中一些精致的细节。虽然在文献目录中我们列举了近千篇文章,但在正文中许多有关细胞杂种的论文仅简单地提及或列入总结不同类型杂种细胞特点的表中。例如,染色体图谱绘制是目前细胞杂交技术中最重要的应用之一。本书虽描述了所用技术并总结了根据细胞杂种进行的基因定位,但并未完全给出各别论文的详细文献。这些省略看来是恰当的,因为人类基因图谱绘制的状况现在每年在国际性会议上都有总结,也因为细胞杂交技术只是基因定位的许多方法之一。因此,关于人类基因组本身的详细讨论没有包括在内,与之有关的参考文献也就相应地削减了。

本书的一个目的是想把细胞杂交领域以受过基础生物学训练的学生们能看得懂的形式写出来。为了对这方面有所帮助,我们列入了一个名词小辞典,其中词汇不是每个生物学家或医生都用到的。对个别读者来说,有些包括在内的词汇好像是太粗浅。可是,对于哪些词汇是不合适的,不同的读者可能会有不同看法。在正文中,我们首次应用任一这类词汇时,总是明确地或暗示地给以定义。然而,我们有各章不必依

顺序阅读的意向,而是可以翻开此书任何一章读之便能理解。这样,读者浏览时很可能遇到一个不熟悉的词汇,在上下文中没有其含义的线索。如果出现这种情况时,读者可以向小辞典求助。我们希望我们已预料到不同读者的需要。

同样的鼓励也应给予那些遇到一个不熟悉的缩写字或首字母缩略词的人们。一般,这些词汇仅在正文中第一次用时予以说明。但是,在此绪言之后,有一缩写字表,其中对这些符号做了解释,应该对浏览者和未入门者有所帮助。

许多章都有引言部分解释生物学问题和可能是不熟悉的词汇。专家们可轻易地略过这些部分而进入下面讨论细胞杂交研究结果的各部分。然而,我们希望这些引言部分能使对所介绍的领域经验有限的读者们就所讨论的问题有较清楚的理解。

我们的许多朋友看过一章或几章并给予指教,从而使我们避免许多严重的错误。

N. R. 林格兹

R. E. 萨维奇

名词缩写表*

1s	二倍体染色体数或 DNA 含量
2s	四倍体染色体数或 DNA 含量
3T3	接触抑制的小鼠细胞系
3T6	自发转化的小鼠细胞系
Å	埃单位
A9	由缺损次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶 L 细胞所产生的细胞系
A9HT	A9 细胞系的恶性亚系
AAT	丙氨酸转氨酶
AChE	乙酰胆碱酯酶
ACO	乌头酸酶
ACP ₁	酸性磷酸酶-1(红细胞)
ACP ₂	酸性磷酸酶-2
ADA	腺苷脱氨酶
Ade ⁻	需腺嘌呤的突变型细胞系
Ade ⁻ A	属于互补 A 组的需腺嘌呤的营养缺陷型突变体
Ade ⁺ B	中国仓鼠基因互补腺嘌呤 B 营养缺陷型细胞
ADH	醇脱氢酶
AG	氮鸟嘌呤
AG ^R	氮鸟嘌呤抗性

*参阅第十三章表 4 中的基因标志简称。

AGMK	非洲绿猴肾细胞系
AICAR	5-氨基咪唑-4-羧基酰胺核糖核苷酸
AIR	5-氨基咪唑核糖核苷酸
AMP	5'-磷酸腺苷
APRT	腺嘌呤磷酸核糖基转移酶
Ara-C	阿糖胞苷
ATP	5'-三磷酸腺苷
ATPase	三磷酸腺苷酶
AU	任意规定的单位
AUC	来源于一例乳清酸尿症患者的细胞系
B82	小鼠 L 细胞的 BUdR ^R 亚系
B82HT	B82 小鼠细胞恶性亚系
BCdR	5-溴脱氧胞嘧啶核苷
BHK	幼小仓鼠(叙利亚仓鼠)肾细胞系
BUdR	溴脱氧尿核苷
BUdR ^R	溴脱氧尿核苷抗性
C ₄	补体因子 4
C ₅	补体因子 5
Ca ²⁺	钙离子
CAP	氯霉素
CAP ^R	氯霉素抗性
cDNA	互补 DNA
cRNA	互补 RNA
CHO	中国仓鼠卵巢细胞系
Cl	纯系
Con A	刀豆凝集素 A
D98	非整倍体人细胞系 × 10
D98/AH-2	缺损 HGPRT 的人细胞系

DMSO	二甲亚砜
DNA	脱氧核糖核酸
DON	中国仓鼠细胞系
EBV	爱泼斯坦氏-巴尔氏(Epstein-Barr)病毒
EDTA	乙烯二胺四乙酸
F ₁	子一代
FI	融合指数
FGAM	α -N-甲酰甘氨酸-脘核糖核苷酸
Fu5	小鼠肝癌细胞系
Fu5-5	小鼠肝癌细胞系, Fu-5 的亚纯系 5
G ₁	G ₁ 期, 细胞周期的复制前期
G ₂	G ₂ 期, 细胞周期的复制后期
G6PD	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶
GAR	β -甘氨酸脘核糖核苷酸
β -Glu	β -葡萄糖醛酸苷酶
Glu ⁻	需葡萄糖的突变体细胞系
Gly ⁻	需甘氨酸的突变体细胞系
Gly ⁺ A	互补 A 组的基因 互补 Gly ⁻ 突变体(丝氨酸羟甲基酶缺损)
GlyA ⁻	属于互补 A 组的需甘氨酸突变体
h	小时
H-2	小鼠主要的组织相容性抗原复合物
³ H	氚标记的
HAM	含有次黄嘌呤, 氨基蝶呤和 5-甲基脱氧胞嘧啶核苷的选择性培养液
HAT	含有次黄嘌呤, 氨基蝶呤和胸腺嘧啶核苷的选择性培养液
HAU	血球凝集单位

Hb	血红蛋白
HeLa	来源于人的细胞系
HGPRT	次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶
HL-A	人类主要的组织相容性抗原复合物
HnRNA	高分子核 RNA
HVJ	日本血凝病毒, 又称仙台病毒
Ig	免疫球蛋白
Ino ⁻	需肌醇的突变体细胞系
IPO-A	靛酚氧化酶-A (二聚体)
IPO-B	靛酚氧化酶-B (四聚体)
KB	人细胞系
L929	小鼠细胞系, 又称 L 细胞
L1210	小鼠白血病
LDH	乳酸脱氢酶(四聚体的)
LDH-1	乳酸脱氢酶-1(包含 4 个 A 亚基)
LDH-5	乳酸脱氢酶-5(包含 4 个 B 亚基)
LDH-A	乳酸脱氢酶 A
LDH-B	乳酸脱氢酶 B
LM(TK ⁻)ClID	小鼠 L 细胞突变体
LN	Lesch Nyhan 氏症候群或这种患者的细胞
LNSV40	由 SV40 病毒转化的人 Lesch Nyhan 氏症 细胞系
MDH	苹果酸脱氢酶
MDH-1	苹果酸脱氢酶(细胞质的)
MDH-2	苹果酸脱氢酶(线粒体的)
MDR	麻疹-犬瘟热-牛瘟病毒
ME-1	苹果酸酶(胞质的)
ME-2	苹果酸酶(线粒体的)

Mg ²⁺	镁离子
min	分
mM	毫克分子
MM	最低限度的培养液
mRNA	信息核糖核酸
MSUD	碱糖病
μm	微米
NAD	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸
NADP	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸
NDV	新城病病毒
nm	毫微米
p	染色体短臂
PCC	早熟的聚集态染色体
PEG	聚乙二醇
PGK	磷酸甘油酸激酶
Pha	植物凝集素
Pro ⁻	需脯氨酸突变体细胞系
PRPP	磷酸核糖焦磷酸
r	伦琴单位(射线)
RAG	小鼠肾腺瘤细胞系
Rh	人类 Rhesus 血型
RNA	核糖核酸
rRNA	核糖体核糖核酸
RNase	核糖核酸酶
RSV	Rous 氏肉瘤病毒
S	Svedberg 单位(沉降系数)
S	细胞周期的 DNA 合成期
SAICAR	5-氨基咪唑-4-(N-琥珀羧基酰胺)核糖

核苷酸

SDS	十二烷基硫酸钠
SEM	平均值的标准误差
Ser ⁻	需丝氨酸突变体细胞
SOD-1	超氧化物歧化酶-1(胞质的)
SOD-2	超氧化物歧化酶-2(线粒体的)
SV40	猿猴 (Simian) 病毒40
T	由肿瘤病毒转化的细胞的肿瘤特异性抗原
TAT	酪氨酸转氨酶
TG	巯基鸟嘌呤
TG ^R	巯基鸟嘌呤抗性
TK	胸腺嘧啶核苷激酶
ts	热敏感
UK	尿苷激酶
UMPK	尿苷: 单磷酸激酶
WI38	人双倍体细胞系
XP	着色性干皮病
μ	微米
μ Ci	微居里, 放射性单位

目 录

译者序	i
绪言	iii
名词缩写表	v
第一章 引言	1
第二章 历史	6
1. 多核细胞的早期观察	6
2. 杂种细胞的发现	8
3. 杂种选择	11
4. 种间杂种细胞和病毒的应用	12
5. 新近的发展	13
第三章 自发的细胞融合	15
1. 细胞内的膜层的融合	16
2. 受精	16
3. 真菌中的胞质配合	17
4. 成肌细胞的融合	17
5. 体内其它细胞的融合	26
6. 在培养中其它细胞的融合	29
7. 结束语	29
第四章 病毒诱导的细胞融合	31
1. 副粘液病毒类的结构	31
2. 影响病毒融合的因素	34
3. 病毒诱导融合的技术	43
4. 融合的定量法	44

第 五 章 细胞融合的机理	50
1. 非病毒因子诱导融合.....	50
2. 与融合有关的膜结构.....	53
3. 凝集现象.....	56
4. 膜碳水化合物类的变化.....	59
5. 膜脂类的变化.....	62
6. ATP 的作用.....	65
7. 稳定作用.....	67
第 六 章 细胞周期不同时相的细胞融合	71
1. 多核体的 DNA 合成.....	71
2. 有丝分裂的同步化.....	77
3. 早熟的染色体聚集态 (PCC).....	78
4. “末期”.....	93
5. 细胞融合和细胞周期分析.....	94
第 七 章 异核体	95
1. 定义.....	95
2. 休止细胞核的重激活.....	96
3. 异核体中核酸合成的调节.....	113
4. 异核体中表型的表达.....	116
5. 异核体用于基因互补分析.....	122
6. 对异核体研究的评论.....	129
第 八 章 细胞片段的融合	130
1. 细胞片段重组成细胞.....	130
2. 细胞松弛素诱发的去核作用.....	131
3. 细胞片段的性质.....	133
4. 胞质杂种 (胞质杂合体 cybrids)	145
5. 重组的细胞.....	148
6. 微细胞异核体.....	157

7. 应用外壳与膜囊的微量注射试验	159
第九章 生长的杂种细胞的分离	160
1. 单核杂种细胞(合核体)的形成	160
2. 不同的分离方法	161
3. 非选择性分离	162
4. 选择性分离	163
5. 应用突变体细胞作杂交的某些问题	172
第十章 杂种细胞中的染色体图象	177
1. 杂种细胞的染色体组成	177
2. 各个染色体的鉴别	180
3. 种间杂种	188
4. 种内杂种	193
5. 染色体排除的机理	193
第十一章 杂种细胞的表型表达	197
1. 表型研究的亲本细胞和标志	197
2. 基因表达图	202
3. 组成标志的表达	206
4. 抗药性标志	207
5. 偶然标志	213
6. 细胞杂交和细胞分化的分析	229
第十二章 杂种细胞的细胞器	231
1. 细胞核	231
2. 核蛋白体	233
3. 线粒体	236
第十三章 基因图和基因互补分析	243
1. 人类染色体的基因定位	243
2. 绘制染色体区域图	250
3. 基因互补分析	253

4. 人类基因图	258
5. 其他种系的基因图	262
6. 为什么要绘制基因图?	264
第十四章 应用细胞杂交对恶性的分析	265
1. 体内、外肿瘤细胞的生长	265
2. 体外生长的杂种细胞中转化表现型的表达 ...	270
3. 杂种细胞在体内的生瘤力	277
4. 肿瘤细胞杂种表现型的表达	286
5. 体内肿瘤细胞的融合	291
第十五章 病毒感染与体细胞杂种	295
1. 肿瘤病毒的简介	295
2. SV40整合位置的图谱	302
3. 异核体中 SV40 病毒的拯救	304
4. 融合实验未能拯救其它 DNA 肿瘤病毒	309
5. Rous 氏肉瘤病毒(RSV)在异核体中的拯救 ...	310
6. 拯救人类疾病中未知病毒的企图	311
7. 杂种细胞对病毒感染的敏感性	311
8. 杂种细胞中干扰素的合成	313
第十六章 植物细胞杂种	316
1. 原生质体的产生	316
2. 原生质体的融合	318
3. 融合的原生质体的发育	320
4. 杂种细胞和愈伤组织的选择和鉴定	323
5. 植物原生质体如何杂交?	326
参考文献	328
小辞典	376
索引	388

第一章 引言

体细胞杂交作为一种技术,虽只是新近几年引用的,但它在细胞生物学、遗传学、发育生物学、肿瘤生物学、以及病毒学的应用上,已证明是很起作用的实验方法。这种技术基本上涉及不同细胞的自发或诱发融合而产生一个细胞杂种。动物、人类、甚至昆虫和植物的各种不同细胞类型均被用作这类融合的亲本。采用不同有机体的细胞(例如:小鼠+人类、鸡+大鼠、蚊子+人类)来融合时,便产生种间的杂种细胞。在这些情况下,亲本细胞即使不在表现型上至少也在基因型上有区别。种内的杂种细胞是通过同一物种的两种不同类型细胞(例如:小鼠成纤维细胞+小鼠淋巴母细胞)融合而得的。在这些例子中,亲本细胞表现型不同,即在形态学、生物化学、免疫学或功能的特征上是不同的。

细胞的自发融合,在实验室培养情况下(在体外)以极低的频率出现,在活的有机体(在体内)也偶尔出现。当前进行体外诱导细胞杂种的标准实验方法,一是将灭活的仙台病毒加入含有两种不同细胞类型的培养物中。采用这种方法,便能产生两类多核细胞(多核体)。一类细胞中所含有的核,只来自一种亲本型(同核体),而另一类细胞中所含有的核则是从两亲本型来的(异核体)。只有后者才称为杂种细胞。

一个异核体一旦形成,它便有两条前途:可作为多核体在短暂培养之后死亡,或者可存活并产生两个称为合核体的单核的杂种细胞(图 1-1)。这一名称在当前的文献中不太广泛采用。而“杂种细胞”却几成为合核体状态同义语。但应予