

## 蓖麻蚕血球细胞的体外培养及其 病毒感染试验

谢天恩 王录明 梁布锋

(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉)

### A STUDY ON THE HEMOCYTES OF PHILOSAMIA CYNTHIA RICINI IN VITRO AND INFECTIVE EXPERIMENT WITH VIRUS

Xie Tian-en

Wang Lu-ming

Liang Bu-feng

(*Wuhan Institute of Virology Academia Sinica, Wuhan*)

蓖麻蚕 (*Philosamia cynthia ricini Donovan*) 由本所昆虫饲养室提供。选择健康的 5 龄幼虫, 饥饿 24 小时, 先用自来水洗净虫体, 将幼虫放入 75% 乙醇中浸泡 20—30 分钟, 体表消毒, 取出幼虫以灭菌的双重蒸馏水和 Hanks 液各洗涤 2 次, 置幼虫于已灭菌的滤纸平皿中, 吸干体表水分。剪脚部采血, 直接滴入预先盛有 2 毫升培养液的扁瓶中, 每瓶采血 1—2 滴, 加盖橡皮塞, 轻微摇动瓶子, 使培养瓶内的细胞均匀悬浮于培养液中, 26℃恒温静止培养。

培养液的配方是: Grace 氏基础液<sup>[1]</sup>45%, TC 100 基础液<sup>[2]</sup>45%, 蓖麻蚕血淋巴 (60℃处理 5 分钟) 5%, 乳牛血清 5%。每毫升培养液中含有青霉素 100 单位, 链霉素 100 微克, 饱和苯基硫脲液少量, pH6.4。

原代培养的细胞, 共做了十三瓶, 选择其中细胞生长最好的 2 瓶, 进行传代培养, 按 1 : 2 的比例, 将原代细胞悬液 (2 毫升) 吸出 1 毫升移入另一个培养瓶中, 留 1 毫升细胞悬液在原来的培养瓶内, 然后用新鲜的培养液分别加入 1 毫升 (每瓶为 2 毫升), 在 26℃继续培养, 每隔 7—15 天传代一次, 传代达 25 次。传代过程中细胞生长良好。

在原代细胞培养中, 大多数的细胞贴附瓶壁, 少部分细胞悬浮于培养液中, 有上皮样细胞和圆形的细胞, 但上皮样细胞居多; 再培养至第 3 代时, 细胞群聚现象出现, 并从群聚的细胞团边缘, 生长出新生的细胞, 其形态有长梭形的 (图 1) 和圆形的细胞 (图

照片由本所电镜室拍摄, 特此致谢。

2), 在新生长的细胞中, 容易观察到成双的细胞(图3), 这种成双的圆形细胞十分透明, 当成双的圆形的细胞出现在培养液中时, 细胞的数量明显地逐渐增多; 在传代至第10次时, 大多数的细胞呈圆形, 悬浮生长, 也看到少量短棱形的细胞(图4); 而传代至第13代以后, 细胞均为圆形, 大小不一, 核质分明, 细胞核位于细胞的中央部分, 也看到核偏向细胞质一端的(图5)。

我们用蓖麻蚕核型多角体病毒感染蓖麻蚕幼虫, 发病后, 取其病虫淋巴, 制备病毒悬液<sup>[3]</sup>; 然后接种于血球细胞, 在26℃培养至第5天, 收集细胞, 经超薄切片, 在电子显微镜下观察, 病毒在血球细胞的细胞核中增殖, 于核中清楚地看到病毒发生基质、核衣壳、病毒束及多角体(图6)。我们将进一步在这个病毒-细胞系统中, 研究其病毒的形态发生。

#### 参 考 文 献

- [1] Grace, T.D.C., 1962, Nature 195: 788—789.
- [2] Gardiner, G.R. et al., 1975, J.Invertebr.Pathd. 25:363—370.
- [3] 谢天恩等, 1982, 病毒学集刊 1:91—101。

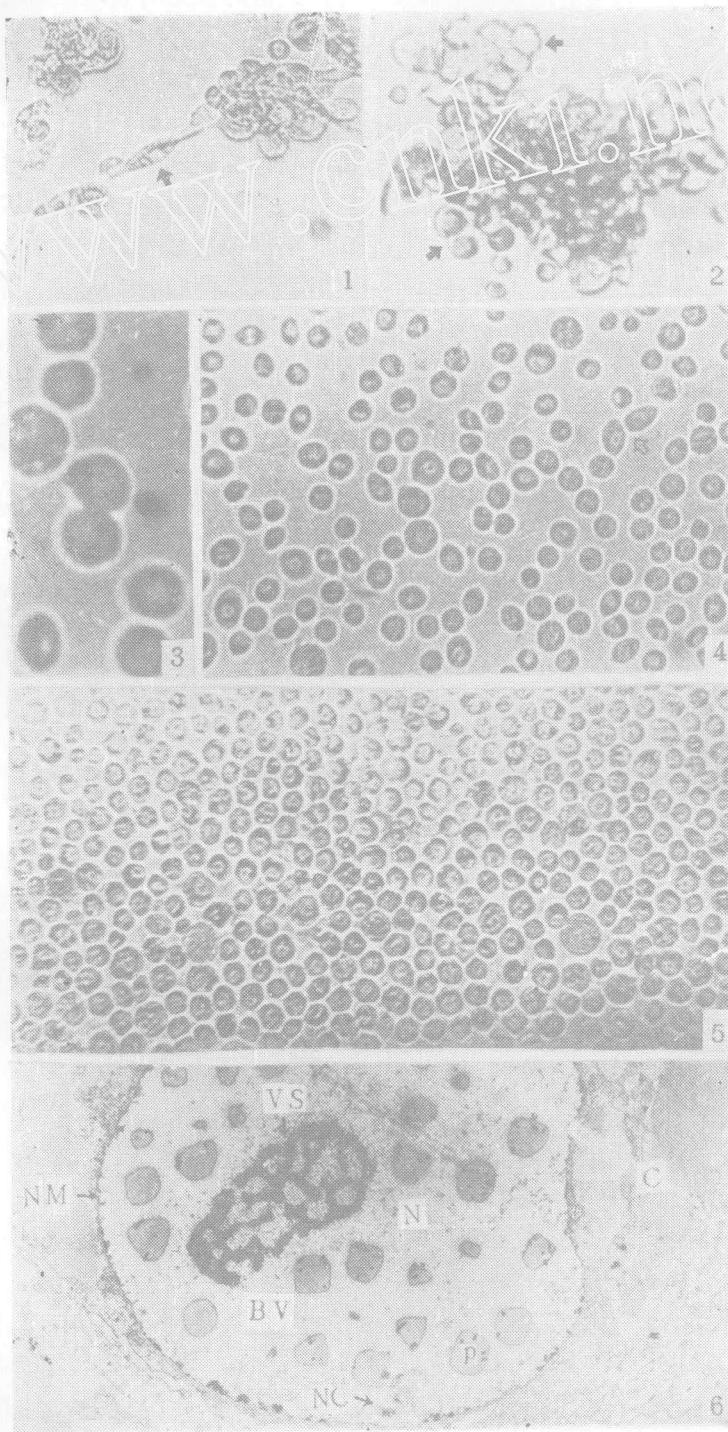


图1, 传代3次的蓖麻蚕血球细胞聚团, 长出新生的细胞, 呈梭形(箭头所指)×375

Fig 1, The blood cells of *Philosamia cynthia ricini* have been passaged 3 times, grown new cells from accumulation.

The type of cells was spindle-shaped. (arrows) ×375

图2, 传代3次的蓖麻蚕血球细胞聚团, 长出新生的细胞, 呈圆形(箭头所指)×375

Fig 2, The blood cells of *philosamia cynthia vicini* have been passaged 3 times, grown new cells, from accumulation. The type of cells was round-shaped. (arrows) ×375

图3, 蓖麻蚕血球细胞在传代过程中, 出现成双的细胞×660

Fig 3, Twin cells have been observed when blood cell of *Philosamia cynthia ricini* subcultured. ×660

图4, 传代10次的蓖麻蚕血球细胞, 有少量的梭形细胞(箭头所指)×375

Fig 4, After the blood cells of *philosamia cynthia ricini* have been passaged 10 times, few of cells was spindle-shaped. (arrows) ×375

图5, 传代13次的蓖麻蚕血球细胞, 呈圆形, 大小不一。×375

Fig 5, After the blood cells of *Philosamia cynthia ricini* have been passaged 13 time, the type of cells was round-shaped, the size of cells was not homogeneous. ×375

图6, 超薄切片, 蓖麻蚕核型多角体病毒在蓖麻蚕血球细胞的细胞核中增殖×6300

C. 细胞质, N. 细胞核, NM. 核膜, VS. 病毒发生基质, NC核衣壳, BV. 病毒束, P. 多角体。

Fig 6, Electron micrograph shows that NPV of *Philosamia cynthia ricini* multiplied in the blood cells nuclei of *Philosamia cynthia vicini* ×6300

C : Cytoplasm      N: Nucleus

NM: Nuclear membrane

VS: Virogenic stroma

NC: Nucleocapsid

BV: Bundle Virus

P : Polyhedra