

分泌抗 2b 型福氏志贺氏菌单克隆 抗体杂交瘤细胞系的建立

甄宏大 杨素贤 孙晓康

(内蒙进出口商品检验局)

周基平 郭承存

(呼和浩特市传染病院)

志贺氏菌属是肠杆菌科中抗原关系较复杂的菌群之一,属内外不同菌间血清学交叉反应较普遍^[1],以致难以应用现代免疫学技术进行快诊。单克隆抗体技术的出现,为制备高度特异的免疫学诊断试剂提供了有效手段。为探讨这一新技术在解决志贺氏菌交叉反应问题方面的可能性,选用 2b 型福氏志贺氏菌进行试验,培育出一株分泌抗该菌单克隆抗体的杂交瘤细胞系。现将建株情况及抗体特性报告如下。

材料和方法

1. 免疫原: 2b 型福氏志贺氏菌 51574 (卫生部药品生物制品检定所标准株),以其 18 小时肉汤培养物经 0.2% 福尔马林灭活,作为免疫原。

2. 免疫: 免疫原加等量福氏完全佐剂,注射于 BALB/C 小鼠腹腔,共两次,间隔 3 周。融合前 3 天,由静脉注入菌 1×10^8 个。

3. 融合: 用 SP₂/O-Ag14 与 5 倍量的免疫小鼠脾细胞相混合,离心后,于沉淀的细胞内加 50% 的 PEG 进行融合。

4. 抗体筛选: 用间接免疫荧光法。

5. 克隆化: 用有限稀释法。

6. 抗体大量制备: 将杂交瘤细胞注射于 BALB/C 小鼠腹腔,形成腹水瘤后采集腹水。

7. 酯多糖抗原: 按 Sufherland 酚水法从丙酮干燥的 2b 型福氏志贺氏菌浸抽而得^[2]。

8. 抗体滴定: 用 Casman 氏微型板琼脂双扩散法^[3]测定抗体与酯多糖反应。用凝集试验、

表 1 Sh_{2b}/H₂ 单克隆抗体特异性试验结果

菌 型	株数	Sh _{2b} /H ₂ 单克隆抗体	诊断血清	
			福氏 “2”型	福氏群 “7”
福氏志贺氏菌 1a	1	—	—	—
福氏志贺氏菌 1b	1	—	—	—
福氏志贺氏菌 2a	1	—	+++	—
福氏志贺氏菌 2b	5	+++	+++	+++
福氏志贺氏菌 3	1	—	—	++
福氏志贺氏菌 4a	1	—	—	—
福氏志贺氏菌 4b	1	—	—	++
福氏志贺氏菌 5	1	—	—	+++
福氏志贺氏菌 6	1	—	—	—
福氏志贺氏菌 x	1	—	—	+++
福氏志贺氏菌 y	1	—	—	—
鲍氏志贺氏菌 11	1	—	—	—
鲍氏志贺氏菌 12	1	—	—	—
宋内氏志贺氏菌	1	—	—	—
大肠艾希氏菌 013	1	—	+	±
大肠艾希氏菌 073	1	—	++	++
其他大肠埃希氏菌*	12	—	0	0
变形杆菌	3	—	0	0
枸橼酸杆菌**	3	—	0	0
链球菌 A 群	15	—	0	0
表皮葡萄球菌	4	—	0	0
枯草杆菌	3	—	0	0
蜡样芽孢杆菌	3	—	0	0
巨大芽孢杆菌	2	—	0	0

* 其 O 抗原式: 03, 011 017, 044, 062, 085, 077, 0106, 0135, 0111, 0126, 0127。

** O 及 H 抗原式: 022: H64, 023: H52, 019: H87。
“0”表示未试验。

间接免疫荧光法^[4]测定抗体效价及其特异性。

9. 用协同凝集试验法直接从粪便检查 2b 型福氏志贺氏菌: 粪便标本 1—3g, 加盐水 1ml,

煮沸,离心,取上清液与腹水 2b 型福氏菌单克隆抗体致敏的 Cowan I 葡萄球菌做协同凝集试验,用常规培养法和志贺氏菌诊断血清作对照。

结 果

(一) 分泌所需抗体杂交瘤的筛选

从 166 个杂交瘤细胞生长的培养孔中,筛选出 4 株分泌所需抗体的杂交瘤细胞。经克隆化和连续传代,建成 1 株—Sh_{2b}/H₂。

(二) Sh_{2b}/H₂ 所分泌抗体的血清学特性

1. 特异性: 用玻片凝集试验, Sh_{2b}/H₂ 抗体仅与 2b 型福氏志贺氏菌发生反应,呈型特异性,与所试 47 株非志贺氏菌无交叉反应(见表

表 2 Sh_{2b}/H₂ 单克隆抗体的滴度

抗体来源	反 应 滴 度		
	玻片凝集	试管凝集	免疫荧光
培养上清液	1:8	1:8	1:32—1:128
血 清	1:400	—	1:400—1:1600
腹 水	1:320	1:320	1:160—1:640

1)。

2. 滴度(见表 2)

3. 球蛋白类型: 用抗鼠球蛋白分类血清琼脂双扩散试验,为 IgM。

(三) 患者粪便检查结果

用协同凝集试验检查呼和浩特市传染病院送检粪便标本 6 份,仅分离出 2b 型福氏志贺氏

表 3 协同凝集试验检查患者粪便结果

编 号	患者姓名	单抗协同凝集	分离培养	诊断血清凝集试验		
				福氏多价	福氏 2 型	福氏群“7”
5900	毛 若 芬	+++	+	+++	+++	+++
5911	潘 俊 青	—	+	+++	++	—
5912	张 素 琴	—	+	+++	+++	—
5913	吴 玉	—	+	+++	+++	—
5914	王 力 峰	—	—	—	—	—
5915	云 淑 芬	—	+	+++	++	—

菌的一例呈阳性反应,其余均为阴性(见表 3),显示了高度特异性。

参 考 文 献

[1] Edwardsp, R. et al: Identification of Ecterobacteria-

ceae 3th Ed. Burgess publishing Co. USA. pp. 120—139, 1972.

[2] Weirm, D. M.: Immunochemistry Vol. 2th Ed. Blackwell Scientific publications, London. pp. 2. 10, 1973.

[3] Casman, E. P. et al: J. Bacteriol. 86: 18. 1963.

[4] Weller & Coons: Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.) 86 789 1954.