

- [8] Quinn, P., Barros, C. & Whittingham, D.G., *J. Reprod. Fert.*, 66(1982), 161.
- [9] Baukloh, V. et al., in *in vitro Fertilization and Embryo Transfer* (Eds. Hafez, E.S.E. and Semin, K.), ALAN R. LISS, INC., New York, 1981,

89-95.

尹海林 陈秀兰
(中国科学院遗传研究所, 北京)

抗牛生长激素单克隆抗体的制备、纯化及 单抗免疫吸附剂的研制

生长激素(GH)是垂体前叶分泌的一种多肽激素,它控制动物的生长,参与机体内各种代谢过程。近年来由于基因工程技术的发展,开辟了GH在经济动物方面应用的前景。因而如何利用先进技术纯化及分析这些基因工程产物,已提到日程上,其中单克隆抗体(单抗)技术,更有其优越性。研究制备GH的单抗,不但对纯化、检测、分析GH提供有效手段,对进一步研究GH对发育生长的调控;GH结构与功能的关系;GH分子免疫活性与生物活性中心的关系等,也是必不可少的工具。国内已建立人GH的单抗,但对动物GH的单抗尚未有报道。本文介绍牛生长激素(bGH)单抗的制备、纯化及单抗免疫吸附剂的研制结果。

我们收集新生小牛的垂体,通过不同浓度的硫酸铵分级沉淀,最后用Sephadex-G-100纯化以制备bGH。经10%凝胶电泳分析证明所提取的bGH达到电泳纯。

以bGH免疫Balb/c小鼠,每月腹腔注射一次(50 μ g/鼠),辅以福氏完全佐剂,连注3次。实验前一周,隔天腹腔注射100 μ g/鼠bGH生理盐水液3次强化。

取免疫鼠脾细胞与处于对数生长期的NS-1细胞,通过50%PEG-1000融合,用含20%胎牛血清的HAT-DMEM培养液培养于96孔培养板中,以小鼠腹腔细胞作饲养细胞。在融合后第10天,检查形成杂交瘤的培养孔,并吸出培养上清液作ELISA检测。由于人力与时间关系,只挑选其中一株分泌抗体强而稳定的杂交瘤细胞,通过4次有限

稀释进行单细胞克隆。每次克隆率分别为97%,18%,74%,10%,克隆细胞抗体检测阳性率均为100%。

收集单克隆杂交瘤细胞,置培养瓶中扩增,以 5×10^6 细胞/0.5ml腹腔注射于Balb/c小鼠,在注射前7-10天,一般先注射降植烷酸,约2周后抽取腹水。ELISA检测,10 $^{-7}$ 稀释仍呈阳性反应。

收集腹水,通过bGH-Sepharose 4B免疫吸附柱纯化,平均每ml腹水可收获抗体10mg。由于检测抗体是用酶标兔抗鼠IgG抗血清,故所获抗体属IgG类型。经标准羊抗鼠IgG亚型抗血清检测,属IgG₁亚型。抗bGH单抗与猪GH有交叉反应,但与人、羊、鱼等的GH无交叉反应。但兔抗bGH多价抗血清,则与人、猪、羊的GH均有交叉反应。

用纯化抗bGH单抗联结到CNBr活化的Sepharose 4B上以制备抗体免疫吸附柱,大约50mg单抗能吸附3mg bGH。通过电泳分析,其纯度比用Sephadex G 100为好。用单抗免疫亲和层析的优点是大大简化了传统纯化程序,用垂体匀浆液液上柱,酸性(pH 3.0)洗脱液洗脱,可一步获取纯化的bGH。经纯化的bGH能与兔肝膜受体结合。

目前正克隆多个能分泌抗体的杂交瘤,并比较其免疫特性。另外正准备制备较大量的纯化单抗,摸索用bGH单抗亲和层析纯化bGH的优选条件。

余慕贞 于一民 史瀛仙
(中国科学院发育生物研究所,北京)