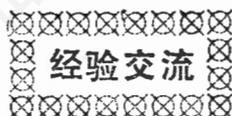


[8] Yashito, K. et al., 1990, In *X-ray Microscopy in Biology and Medicine*, ed. by Shinohara, K. et al., pp 243-246, Japan Sci. Soc. Press, Tokyo.

[9] McGowan, J. Wm. et al., *J. Cell Biol.*, 80: 732-735.

[10] Feder, R. and Sayre, D. 1980, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 342: 213-229.



一种简易实用的 CO₂ 培养装置

郭进林 吴惠联 张玉昆

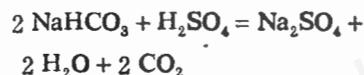
(济南, 山东省医科院基础所微生物室 250001)

近年来由于杂交瘤技术和细胞培养方法的发展, CO₂ 培养箱的使用日益广泛。目前进口或国产的 CO₂ 培养箱价格昂贵, 货源较缺, 并需配 CO₂ 钢瓶, 因此某些地区的一般实验室购置和使用常有困难。有人采用烛罐法或通过范氏气体定量器通 CO₂ 至厌氧罐法作为替代^[1], 但有 CO₂ 量不易控制或操作较繁复之弊。本文介绍我们试制的一种用化学法产生 CO₂ 的简易 CO₂ 培养装置。

28 × 20 × 25 cm 的箱体, 29 × 21 × 5 cm 的底盘即可(底盘的长、宽比箱体的各长出 1 cm)。箱体一侧壁有一个直径约 0.4 cm 的 CO₂ 注入孔(距底边约 8 cm), 固定在箱内角隅的气体平衡管, 为一细长的玻璃管(可使用 10 ml 的吸管制作), 其上端近箱顶, 其下端连通箱体侧壁的一小孔作为气体出口。底盘内有一个放培养物品(塑料培养板或培养瓶等)的平台, 盘内贮放封闭用 1% CuSO₄ 溶液。

将培养物放好后, 将箱体扣到底盘上。然后用 CO₂ 发生瓶通入所需量的 CO₂ 气体, 即成 CuSO₄ 水溶液封闭式 CO₂ 培养装置。

CO₂ 系用一定量的碳酸氢钠与稍过量的硫酸(或盐酸)相反应来制取。碳酸氢钠的用量可通过计算求出。例如上述培养装置其有效容积为 28 × 20 × 25 = 14000(cm)³ = 14 升, 设要求 5% 的 CO₂, 则应通入 CO₂ 14 × 5% = 0.7 升。



84 g(即 1 摩尔量) NaHCO₃ 可产生 22.4 升 CO₂, 产生 0.7 升 CO₂ 需 NaHCO₃ 的量则为:

$$X = (84 \times 0.7) / 22.4 = 2.6(\text{g})$$

由于 CO₂ 发生瓶中将残存一部分 CO₂(其量可根据瓶的空间容积计算出来)故实际可使用 2.8 g。

CO₂ 通入方法是, 将 NaHCO₃ 倒入装有少

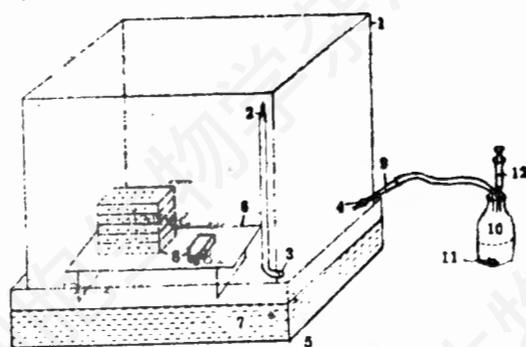


图 简易 CO₂ 培养装置示意图

1.箱体 2.气压平衡管 3.气体出口 4.CO₂ 注入孔 5.底盘 6.载物平台 7.CuSO₄ 溶液 8.培养板 9.CO₂ 通入管 10.CO₂ 发生瓶 11.NaHCO₃ 12.H₂SO₄ 注入器

使用厚 3—5 mm 的有机玻璃, 用氯仿粘接成如图所示的箱体(无底)与底盘, 其体积大小可根据实验需要确定。通常用于杂交瘤试验和一般工作量细胞培养时, 做成长、宽、高为

量水的瓶中，盖上带有滴管的皮塞，滴管尖端插入箱体的 CO_2 注入孔中，以注射器穿过皮塞缓缓注入 $10\% \text{H}_2\text{SO}_4$ (其量亦可通过上式算出，但实际可稍过量些，以使反应较快进行)，则不断产生的 CO_2 即源源注入箱内，而比重较轻的空气则由垂直的气压平衡管上口径平衡管向下被排出箱外。 CO_2 注入毕，拔出滴管，立即用胶布将注入孔封闭，将此装置移放恒温箱中，进行培养。由于平衡管的作用，装置放入温箱后不致因升温使封闭用 CuSO_4 液外溢；又因为平衡管细长，且开口在箱体上方，故也不易造成箱内 CO_2 的逸出。

采用 CuSO_4 溶液，而不用水作封闭液是因为 CuSO_4 有杀菌作用，有利于保持箱内的半无菌状态，同时 CO_2 难溶于 CuSO_4 溶液，有利于维持箱内 CO_2 量的恒定。我们在杂交瘤试验中，将克隆化的细胞株在此箱内连续培养一星期，结果培养液 pH 仍稳定，细胞生长良好。

也有人以烛罐装置代替 CO_2 培养箱，用于细胞的开放培养，即用微生物学技术中的厌氧培养罐或干燥罐，点燃蜡烛，以获得 5% 左右的 CO_2 气体^[2]，此法缺点是蜡烛燃烧消耗掉罐内氧气，而氧气为细胞生长所需要，虽有一些细胞在缺氧情况下可借糖酵解获取能量，但多数细胞缺氧不能或不能较好地生存^[3]，

另外此法所产生的 CO_2 量不易控制，蜡烛燃烧时还可能产生对细胞有毒性的气体，如含硫气体等。本装置采用化学法定量制取 CO_2 ，不仅免去使用 CO_2 钢瓶之繁，且制得的 CO_2 气体十分纯净， CO_2 量可较准确的控制在适当浓度。

我们采用本装置进行融合细胞与杂交瘤细胞培养十分成功。用于微孔塑料培养板的若干种细胞培养、病毒的中和试验与空斑试验等，均效果良好^[4]。

由于此简易 CO_2 培养装置具有制作简易、经济实用，使用方便及上述性能上的优点，不仅适于在一般实验室推广应用，即使对于已有 CO_2 培养箱的实验室，也可用以备不时之需(如停电， CO_2 培养箱出现故障，钢瓶中 CO_2 用尽等情况)。

参 考 文 献

- [1] 陈伯权等，1983，中华微生物免疫学杂志。
- [2] 何长民，1981，医用微生物实验技术，甘肃人民出版社，第 141 页。
- [3] 鄂 征，1988，组织培养技术，人民卫生出版社 第 29 页。
- [4] 郭进林等，1988，实验和临床病毒学杂志，2 (1): 40。

小鼠肝细胞分离培养中应注意的问题*

王 宇 明

(重庆，第三军医大学西南医院 630038)

目前，国内在鼠的肝细胞培养时多用大鼠，而小鼠使用较少，其可能原因有二：一是肝细胞分离操作在大鼠较易掌握，而在小鼠则不易掌握；二是从大鼠分离的肝细胞数量较多，而自小鼠分离的肝细胞数量较少，有时达不到实验要求。然而，使用小鼠也有其优越性。首先，小鼠体重只相当于大鼠的 $1/10$ ，

二者肝脏重量之比也大致如此，因而对小鼠进行肝细胞分离灌流时所用胶原酶远较大鼠为少，大大节约了价格昂贵的胶原酶；其次，有研究发现小鼠肝细胞的生长和增殖能力比大鼠

* 本文承蒙日本岐阜大学医学部第 1 内科研究室大西弘生讲师指导，特此致谢。

(下转插页 3)