

# 人肺癌 DNA 转化细胞系 $i_2$ 及其供体和受体细胞的形态结构的观察

杨力 行申

(北京医科院基础医学研究所)

本文用人肺腺癌细胞系 AGZY-83-a(简称 AGZY)的基因组 DNA 与有抗性标记的载有 neo 基因的质粒 pSV<sub>2</sub>-neo DNA 共转染 NIH 3 T3 细胞, 得到转化细胞系  $i_2$ <sup>[1]</sup>。为了解转化实验中供体细胞(AGZY)、受体细胞(NIH 3 T3)和转化细胞( $i_2$ )在形态结构上的异同点, 对 3 种细胞进行了相差显微镜、扫描电镜和透射电镜的观察比较, 为了解转化细胞的特点提供资料。

## 材料与方 法

1. 细胞 AGZY-83-a 是按肿瘤所建立的人肺腺癌细胞系。培养液为含 10% 小牛血清和青霉素(100 单位/毫升)与链霉素(100 微克/毫升)的 199 培养基。细胞置于 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养, 以 60 万接种于 100 ml 培养瓶, 3 天传一代。次日进行相差显微镜观察和扫描电镜样品制备, 第二天作透射电镜样品。NIH 3 T3 细胞取自日本国立癌症研究中心, 培养于含 5% 小牛血清和 5% 胎牛血清、青霉素(100 单位/毫升)及链霉素(100 微克/毫升)的 MEM 培养基中。

$i_2$  是用 AGZY 基因组 DNA 及 pSV<sub>2</sub>-neo 质粒 DNA, 经磷酸钙沉淀法共同转染 NIH 3 T3 细胞所得到的转化细胞系<sup>[1]</sup>。培养基与 NIH 3 T3 相同, 只是血清改为 10% 小牛血清。

2. 相差显微镜观察 将培养于玻璃瓶中的 AGZY、NIH 3 T3 和  $i_2$  细胞直接用(Nippon Kogaku K. K.)倒置相差显微镜观察照相。

3. 扫描电镜观察 将分别在玻片上的上述 3 种细胞, 用生理盐水洗两次后, 经 2.5% 戊二醛和 1% 锇酸固定, 丙酮系列脱水, 醋酸异戊酯处理, CO<sub>2</sub> 临界点干燥(日立 HCP-2 干燥器), E-5100 型真

空喷镀仪进行金喷镀。在 KYKY1000 B 型扫描电镜进行观察和照相。

4. 透射电镜观察 将 AGZY、NIH 3 T3 和  $i_2$  细胞用橡皮刮刀从培养瓶上刮下, 并连同培养基 1500 rpm 离心 5 分钟。沉淀的细胞用生理盐水洗 1 次后, 经 2.5% 戊二醛和 1% 锇酸固定, 丙酮系列脱水, Epon 812 包埋, 80-80 nm 超薄切片以醋酸铀和柠檬酸铅染色, JEM-2000 EX 透射电镜观察照相。

## 结果和讨论

1. 相差显微镜观察及细胞生长特性 AGZY 细胞呈上皮样, 排列紧密, 可重叠生长, 核仁清晰可见, 常为多个。细胞对血清依赖性很小, 容易增殖繁殖, 具有典型的体外培养癌细胞的特征<sup>[2]</sup>。NIH 3 T3 细胞呈纤维状, 胞体伸出许多突起, 细胞排列比较疏松, 存在接触抑制, 细胞对血清有较大的依赖性。 $i_2$  细胞呈纤维状, 胞体也有不少突起。细胞可重叠形成多层<sup>[3]</sup>(图版图 1)。与 Sencar<sup>[4]</sup>报道的用 II 型腺病毒 E1a 基因转化 3 T3 细胞的生长情况相似。此外, 细胞对血清有一定的依赖性。实验由我们注意到当 NIH 3 T3 细胞传代无一定规律, 体外传代过久等有自发转化的现象产生。因此掌握 NIH 3 T3 传代规律有利于区别自发转化, 提高实验效率。

2. 扫描电镜观察和细胞表面特征 3 种细胞各制作了 3 批样品, 对每批样品所进行的观察结果表明: AGZY 细胞呈多边形上皮状, 胞体大。绒毛很多, 细而长, 特别是胞体部。

自然科学基金资助题目

细胞表面布满皱襞,绒毛末端常常膨大,呈泡状或吸盘状(图版图2),这与文献报道的结果一致<sup>[5,6]</sup>。肿瘤细胞以此增加细胞的表面积,提高细胞代谢<sup>[7]</sup>。NIH3T3细胞呈纤维状,有不少长的突起,绒毛粗而短(图版图3)。i<sub>2</sub>细胞呈纤维状,有不少长的突起,绒毛比NIH3T3明显细长,但不及AGZY细胞。细胞表面有许多泡状或盘状的绒毛变形结构(图版图4)。Kwnara<sup>[8]</sup>观察到在正常宫颈上皮、原位癌、化生上皮、早期浸润癌与浸润癌这一系列不同病理过程中,细胞存在微绒毛由少而短变为长而多,表面由绒毛状变为颗粒状的趋势。由此看来,转化细胞的表面结构特征是细胞恶性化酶的体现。此外,还有转化细胞表面出现许多皱褶(Ruffling)的报道<sup>[9]</sup>。我们在实验中没有观察到这种现象,这种现象是否普遍存在于转化细胞,有待探讨。

### 3. 透射电镜观察与细胞内部结构特征

3种细胞各制作了两批样品,对每个样品的近百个细胞所进行的观察表明:AGZY细胞核与胞质比例大于正常细胞,核形状不规则,核质均匀细密,异染色质极少,核膜常有凹陷,使核呈多叶状(图版图5),核仁常常有多个。胞质少,其中有许多线粒体。线粒体外形规则,常呈圆形或棒状,嵴结构清楚。粗面内质网丰富,其上及胞质中分布有许多核糖核蛋白体。高尔基器可见,此外也可见到多而长的微绒毛。NIH3T3细胞核质比例小,核多呈圆形或椭圆形。异染色质常常分布在近核内膜处。核膜无内陷。核仁少见。线粒体圆形或似哑铃形。内质网常可见,核糖核蛋白体不多,高尔基器发达。i<sub>2</sub>细胞核质比例比NIH3T3大,核质均匀细密,异染色质少,只在核膜内面有少量存在。核形不规则,核膜深陷使之呈分叶状。核仁常常多个(图版图6)。由此看来,i<sub>2</sub>细胞核的特征与AGZY细胞十分相似。这与Kroider等<sup>[10]</sup>报道的用乳头状瘤病毒转化的人宫颈癌细胞一致。i<sub>2</sub>细胞质中含有丰富的粗面内质网、核糖核蛋白体和高尔基器。线粒体大

而多。这些特征表明i<sub>2</sub>细胞代谢水平明显高于NIH3T3细胞<sup>[11]</sup>。也可见i<sub>2</sub>细胞有长的微绒毛。这与AGZY细胞相似而不同于NIH3T3,印证了扫描电镜对微绒毛的观察结果。

根据以上的观察和分析可见i<sub>2</sub>细胞基本上呈现转化细胞的生长特性和形态改变<sup>[3]</sup>。已有许多文献表明,形态变化和生长控制(如细胞间的联系,细胞贴壁等)之间有密切关系,而且这种变化可能是由与转化有关的某些成份所引起<sup>[12,13]</sup>。鉴定与转化相关的成份是我们的进一步设想和将要进行的更加深入的工作。

### 摘 要

本文用相差显微镜、扫描电镜和透射电镜对NIH3T3、人肺腺癌细胞系AGZY-83-a及转化细胞i<sub>2</sub>(系AGZY-83-a基因组DNA和有抗性标记的载有neo基因的质粒pSV<sub>2</sub>-neo DNA共转染NIH3T3所得)进行了形态结构的比较观察。结果发现转化细胞呈纤维状,能重叠生长,细胞表面微绒毛明显细长,核形不规则,粗面内质网、核糖核蛋白体丰富等在形态结构上显示了恶性特征。

### 参 考 文 献

- [1] 何申等, 1989, 中国医学科学院学报, 11(3):219.
- [2] 大星章一, 菅野晴夫著, 吴政安等译, 1979, 人癌细胞培养, p. 78.
- [3] 潘世成, 1984, 肿瘤, p. 538.
- [4] Senear, A. W. and Lewis, J. B., 1986, *Mol. Cell Biol.*, 6(4): 1253.
- [5] 王玉利等, 1985, 中国肿瘤临床, 12(4):16.
- [6] 陈兴等, 1987, 中华病理学杂志, 16(1): 45.
- [7] 宁爱兰等, 1980, 实验生物学报, 13(3): 265.
- [8] Kunara H, 1975, 日本临床细胞学杂志, 14: 95.
- [9] Dafna, Bar-Sagi and James, R., 1986, *Science*, 233(2): 1061.
- [10] John, W. K. et al., 1985, *Nature*, 317(17): 639.
- [11] 宁爱兰, 1980, 解剖学报, 11(1): 69.
- [12] Krueger, J. G. et al., 1982, *Cell*, 28: 889.
- [13] Heckman, C. A. et al., 1987, *Exp. Cell Res.*, 169(1): 127.