

细胞培养系中的编程性细胞死亡

王 伟 林均民

(厦门大学生物学系 厦门 361005)

摘 要 简要介绍了生物反应器中细胞培养系的编程性死亡和几种可能的控制细胞编程性死亡的途径。

关键词 细胞培养,编程性细胞死亡

近二十年来,动物细胞培养系广泛地用于生物工程领域和制药业生产诊断、治疗蛋白质以及分析试剂,优化生产程序,尤其是建立最佳细胞培养方法,一直是生物、医学工程领域令人瞩目的问题^[1]。相比之下,对如何控制培养系中细胞死亡的水平尚研究不多。过去认为,细胞死亡通过被动的、无法干预的坏死过程进行。现在看来,在生理或离体条件下,温和胁迫诱导的细胞死亡并非通过坏死作用,而是通过遗传控制的过程——编程性细胞死亡(PCD)进行^[2]。于是,有可能人为控制生物反应器中细胞死亡的程度,提高细胞产率和经济效益。关于 PCD 的特征、调节基因^[3]及研究方法^[4]等已有专门的论述,本文仅就控制生物反应器中 PCD 的可能途径简介如下。

一、细胞培养系中的 PCD

在细胞培养体系中,理化条件不断变化,各种用于大规模生产抗体的商业细胞系,包括杂交瘤和骨髓瘤,在培养过程中都不可避免地发生 PCD。尤其在高密度灌流培养条件下,细胞要生长较长时间,同时死、活细胞共存于生物反应器内部,因此细胞经常遭受各种胁迫条件,如营养、氧气的限制,pH变化,高浓度毒物等,生物反应器中 PCD 发生与否以及发生的水平取决于胁迫程度^[5]。严重胁迫时,如高浓度毒物、pH剧变、过度振荡等,细胞来不及对刺激反应,通过坏死作用马上死亡。中度胁迫下,细胞受伤害但不死亡。因而有时间启动其死亡程序,发生 PCD。这是生物反应器中细胞死亡最常见的一种方式。轻度胁迫时,细胞产生热激蛋白,保护细胞免受胁迫伤害。

对于生物反应器中的培养细胞,促进细胞增殖的促细胞分裂原和阻止 PCD 的生存因子都是细胞生长所必需的,这两种因子在介质中的正确平衡可能是保持培养细胞活力、抑制细胞死亡的一个重要方面。类胰岛素生长因子(IGF-1)是一种强有力的生存因子,却是较差的促细胞分裂原。相反,许多细胞因子是良好的促细胞分裂原,但维持生存能力较差^[6]。巨噬细胞集落因子(M-CSF)的作用效应则和浓度有关:低浓度时,维持细胞生存;高浓度时,促进细胞增殖^[7]。

二、控制 PCD 的可能途径

目前,生物、医学工程领域大规模利用的各种商业细胞系,在培养过程中都不可避免地发生 PCD,从而影响细胞产率和经济效益,近来的研究进展^[3,5]使人们有可能控制生物反应器中 PCD 的程度(图 1)。

1 遗传修饰

研究表明,bcl-2、bcr-abl 等基因的表达显著抑制细胞的死亡^[2,8]。例如,bcl-2 加强表

达对 SK 细胞编程死亡有抑制效应^[9]; 淋巴细胞转染 *bcl-2* 后, 可不经预适应直接在振荡悬浮介质中生长, 说明该基因可保护细胞免受流体剪切力诱导的 PCD。Bcl-2、*bcr-abl* 转染后, 细胞系活力增强, 能够在非最适条件下(营养限制、非最适 pH 等)生存^[5], 从而提高细胞对介质的利用效率, 同时因 PCD 细胞发生继发性坏死释放的蛋白水解酶的数量以及随后的产品降解也将大大降低。另外, 转染后介质中的细胞碎片也会减少, 有利于蛋白质产品的分离。遗憾的是, 迄今为止抑制 PCD 的基因尚未用于转染具有重要商业价值的细胞系。

2 PCD 抑制剂

对动物细胞培养而言, 重要的突破应是建立一种不依赖补加血清的培养方法。除了成本较高外, 血清的存在也使目标蛋白的回收程序更复杂。几种阻止 PCD 抑制剂的阐明为最终构建非血清介质提供了可能性。

2.1 三羧基玫红酸 三羧基玫红酸(aurintricarboxylic acid, ATA)可抑制内切核酸酶的活性, 进而阻止许多细胞系的 PCD^[10]。这种化合物相对廉价, 有望推广应用。

2.2 Zn^{2+}

操纵介质中 Zn^{2+} 浓度也可以控制 PCD, 但其有效作用浓度可能毒害细胞^[5]。

2.3 抗氧化剂

在小分子有机物中, 抗氧化剂是最有应用前途的一种 PCD 抑制剂。抗氧化剂可在活性氧触发 PCD 前中和掉它们^[8]。

2.4 细胞因子

白介素、集落刺激因子等也有抗 PCD 的属性^[7,11]。由于它们的成本较高, 不可能添加到培养介质中, 但借助遗传修饰可使细胞自分泌抗 PCD 的细胞因子。

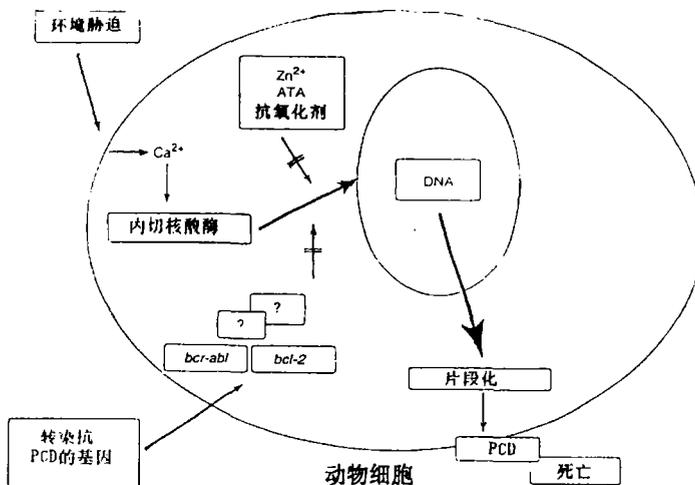


图 1 控制细胞培养系中编程性细胞死亡(PCD)的可能途径。

在生物反应器中, 胁迫因子诱导的 PCD 导致生产效益降低, 通过转染抗 PCD 的基因或培养介质中添加 ATA、 Zn^{2+} 或抗氧化剂可能抑制具有重要价值细胞系的 PCD 过程^[5]。

结束语

迄今, 虽然对 PCD 机制、调控的认识取得了较大的进展, 但仍有许多重要的方面(如 PCD

的直接诱因)不清楚,完全操纵培养细胞的 PCD 还有相当长的路程要走。可以预言的是,通过转染抗 PCD 的基因或在培养介质中补充 PCD 抑制剂或适当的生存因子,提高细胞的生存能力、控制 PCD 是完全可能的。

参考文献

- 1 Spier R E. In *Animal Cell Technology: Developments, Progress and Products* (Spier R E, Griffiths J B, MacDonald C. eds), 1992, 9~12, Butterworth - Meinemann.
- 2 Arends M J, Wyllie A H, *Int Rev Exp Pathol*, 1991, 32: 223~229
- 3 宝福凯. *细胞生物学杂志*. 1995, 17: 122~126.
- 4 张亚历等. *细胞生物学杂志*. 1995, 17: 127~129.
- 5 Cotter T G, Al-Rubeai M. *Trends in Biotechnol.* 1995, 13: 150~155.
- 6 Fairbairn L J et al. *Cell*. 1993, 74: 823~832.
- 7 Collins M et al. *BioEssays*. 1994, 16: 133~138.
- 8 Hockenbery D et al. *Cell*. 1993, 75: 241~250.
- 9 温龙平等. *细胞生物学杂志*. 1996, 18: 74~78.
- 10 Helgason C D et al. *Exp Cell Res*. 1993, 206: 302~310.
- 11 Rodriguez - Tarduchy G et al. *EMBO J*. 1990, 9: 2997~3002.

您的生物学研究离不开高性能的计算机

计算机为研究人员的数据分析、图形图表幻灯制作、撰写论文、查阅文献、以及国际国内研究信息的交流提供了高效率的使用工具。

北京万达尔公司愿为广大科研人员提供型号齐全、配置多样、性能可靠的 486、586 及多媒体计算机和局域网络,并提供一流的技术支持及良好的售后服务,公司生产的微机均通过国家质量监督中心的检定。本公司多年来在为各大院校及研究所建立微机实验室、多媒体视听教室及局域网络和个人购买计算机的服务中,始终坚持质量第一、信誉至上。几年来售出机器后的硬件故障返修率几乎是零,使顾客无后顾之忧。在当前计算机市场高度竞争及疲软情况下,本公司始终赢得大量回头客且市场兴旺。

欢迎广大科研人员来信来电咨询并订货,外地用户代办托运。

地 址:北京海淀路 53 号万达尔公司(邮编 100080)

(中关村联想集团对面第二排房,乘公共汽车 332、320 路中关村下)

电 话:(010)62549260

开户银行:城信 327 燕园 帐号:201020878~03