

间日疟原虫单克隆抗体的研究*

—与不同地区间日疟原虫及几种动物 疟原虫的间接免疫荧光反应

朱声华 胡安琪 咎中学 王兴振

(华西医科大学寄生虫学教研室)

应用间接免疫荧光法(IFA)检测抗鼠疟红内期原虫单克隆抗体,并与猴疟及恶性疟原虫的交叉试验, Taylor, et al. (1981)曾有报道 刘尔翔等(1984);李文录等(1984),用抗约氏疟原虫和恶性疟原虫单克隆抗体与间日疟原虫进行交叉试验,但用抗间日疟单克隆抗体与同种疟原虫及与其他动物疟原虫作比较试验,尚未见正式文献报道。鉴于目前间日疟原虫抗原来源还十分困难,若能找出其他种疟原虫与间日疟原虫的共同抗原成分,作为替代抗原,将有利于免疫诊断及免疫预防的研究。此外,在我国间日疟原虫是否存在地域株差别的问题,尚没有统一结论。针对上述,本文用现已得到的单克隆抗体,对不同地区的间日疟原虫用IFA进行了初步比较,并对几种动物疟原虫也进行了交叉试验。

材 料 和 方 法

一、单克隆抗体的制备:在四川夹江县用Percoll分离间日疟红内期原虫免疫BALB / C鼠,取其脾细胞与SP2 / 0瘤细胞融合。经克隆化培养,获得抗间日疟红内期原虫的单克隆抗体。

二、小鼠腹水的产生:用阳性克隆细胞(1×10^5)腹腔注射BALB / C鼠。7~14天后取腹水,离心 $1100g \times 20 \sim 30$ 分钟,取上清备用。

三、间接免疫荧光法:

(一)抗原片的种类与制作:间日疟原虫血片取自四川夹江,四川宜宾,云南景洪和广东海南等流行区病人血,去除白细胞离心洗涤后,均匀涂成约 5.5×2.5 厘米血膜,吹干、低温干燥保存。食蟹猴疟原虫血片,取自本室感染恒河猴血。诺氏疟原虫血片,由第一军医大学疟疾免疫研究室赠送。部分约氏疟原虫血片,由中国医学科学院基础医学研究所寄生虫学室赠送,其余取自木室感染鼠血。

(二)荧光抗体球蛋白:北京生物制品研究所生产的免抗BALB / C鼠IgG荧光抗体诊断血清。本实验实际工作稀释度为1:10。

(三)操作步骤:先将抗原片复温30分钟,在血膜均匀处划约 5×4 毫米方格若干。滴加腹水液,置湿盒中37℃孵育30分钟。用0.01M pH7.2 PBS液迅速冲洗,并振摇洗涤5~10分钟。吹干后滴加兔抗鼠荧光标记IgG血清,同上述条件继续孵育30分钟。洗涤吹干,滴加50%甘油液,覆以盖片,用落射式荧光显微镜观察。并在普光下加以验证疟原虫。对每份腹

*国家自然科学基金资助的课题。海南地区昌江县人民医院范太涛主任、云南省景洪县卫生防疫站杨问群医生协助采集抗原片,特此致谢。

水标本均检测2~4次, 最长达7~8次。每次试验均作阴性对照和阳性对照。

(四)结果判断: ±示弱阳性, 荧光微弱; +示阳性, 荧光明显可见; ++示强阳性, 荧光明亮清晰; -示阴性, 无荧光。

结 果 与 讨 论

表 不同地区间日疟原虫及动物疟原虫的IFA反应

McAbs	间 日 疟 原 虫				动 物 疟 原 虫		
	四川 夹江	四川 宜宾	云南 景洪	广东 海南	食蟹猴 疟原虫	诺氏 疟原虫	约氏 疟原虫
1D ⁶	+	±	+	±	±	±	±
2C ³	+	±	—	—	+	±	—
5C ⁶	+	±	—	—	+	±	—
5C ⁹	+	+	—	—	++	±	—
5F1 ²	+	+	+	±	+	±	—
5H ²	+	—	/	/	±	+	—
5H ³	+	±	+	±	+	±	—
6A ⁸	+	+	—	—	±	+	±
6F ⁷	+	±	+	—	+	±	—
6H ¹	±	—	—	—	+	—	—
6H ⁷	++	++	++	+	++	+	±
7A ⁷	±	±	+	—	+	—	±
7B ⁶	+	+	—	—	+	—	±
7B ¹²	±	—	±	—	±	—	±
阴性对照 (SP2/0)	—	—	—	—	—	—	—
阳性对照	+	+	+	+	+	+	±

间接免疫荧光试验的结果(见表)表明14株间日疟原虫杂交瘤细胞所分泌的单克隆抗体, 全部与四川夹江间日疟原虫呈阳性反应, 且弱阳性占的比例也低。而与四川宜宾、云南景洪、广东海南等地间日疟原虫荧光反应阳性率分别为78.57%(11/14)、53.85%(7/13)和30.77%(4/13), 均低于与四川夹江间日疟原虫的反应结果, 与所检测动物疟原虫有不同程度的交叉反应。其中特别是与食蟹猴疟原虫反应的结果和与四川夹江间日疟原虫的极相近似。6H₇抗体与所检测虫种, 全部有荧光反应, 且反应强度均比其他单克隆抗体高。

疟原虫的间接荧光抗体试验虽有属的特异性, 但与同种疟原虫反应最敏感, 效价也最高。本实验系由四川夹江间日疟病人血中分离红内期原虫免疫鼠, 进行融合试验。14株单克隆抗体反应结果, 证明种的特异性和敏感性是明显的。而与四川宜宾、云南景洪、广东海南等地间日疟原虫的反应结果差异较大, 且弱阳性反应也较多。此结果或许支持我国间日疟原虫可能存在地域性差别的论点。

用间日疟原虫单克隆抗体检测食蟹猴疟原虫的反应结果, 显示猴间日型疟原虫与其他种动物疟原虫相比, 有与人间日疟原虫更多的共同抗原成分。提示在进一步作动物保护性实验时, 考虑应用灵长类动物及其疟原虫虫种, 或许有可能获得较满意的结果。

在本实验中,观察到6H₇抗体与不同地区的间日疟原虫均显示强阳性反应,而与动物疟原虫又有交叉反应。经反复实验,结果均一致。证明该抗体能识别多种疟原虫之间具有的共同抗原组分。对其作进一步研究,或许在疟疾免疫诊断及流行病学调查方面有一定的应用意义。

参 考 文 献

- 刘尔翔等 1984 几株抗人疟原虫单克隆抗体的鉴定。全国McAb ELISA学术交流会论文集,上海。
- 李文录等 1984 用单克隆抗体分析约氏疟原虫抗原的研究。 、约氏疟原虫红内期与人疟原虫的共同抗原 寄生虫学与寄生虫病杂志2 (2): 83。
- 王兴振等 1984 间日型疟原虫杂交瘤单克隆抗体研究。抗原制备—红内期原虫的浓集与分离 四川医学院学报15(3): 201。
- 王兴振等 1985 抗人间日疟原虫单克隆抗体的产生和筛选 四川医学院学报 16(1): 6。
- Taylor, D. W. et al, 1981 Monoclonal antibodies to stage—specific, species—specific, and cross-reactive antigens of the rodent malarial parasite *Plasmodium yoelii*. Infection and Immunity 32: 563.

软体长吸盘吸虫在中国首次发现

孙希达 江浦珠

(杭州师范学院生物系)

1986年11月在浙江省桐庐的栉鼠耳蝠*Myotis fimbriatus(peters)*的小肠中得到枝腺科(Lecithodendriidae)的吸虫14条,经鉴定为软体长吸盘吸虫*Longitrema chilostomum* (Mehlis, 1831)Chen, 1954。(测量单位:毫米)。

体呈长椭圆形,在腹吸盘处最宽,侧面呈棱形,大小为1.56—1.98×0.43—0.71。口吸盘为长圆形,长大于宽,0.26—0.28×0.21—0.22。腹吸盘为0.14—0.21×0.15—0.16。咽球形,0.05。食道长0.14—0.12。盲肠末端在睾丸之前。睾丸卵圆形,0.14—0.16×0.11—0.14,位于腹吸盘之两侧。阴茎囊为0.11—0.12×0.12—0.13。生殖孔位于腹吸盘之前。卵巢在两睾丸之间,0.11—0.12×0.08—0.15。受精囊0.03—0.07×0.04—0.08。卵黄腺每边约8—10个小泡,位于盲肠水平。子宫占腹吸盘后之体部。卵椭圆形,0.027—0.031×0.011—0.14。

该虫由Mehlis, 1831年首次发现于匈牙利的大菊头蝠*Rhinojophus ferrum equumum*的小肠中。本属在中国是首次报导。本文标本的形态结构基本上与匈牙利的标本相同。