

基因工程抗体的性质及应用前景

何明亮 李载平

(中国科学院上海生化所、中国科学院上海生命科学联合开放实验室 200031)

一、基因工程抗体的理化及生物学性质

如果需要全抗体分子,目前仍主要选用哺乳动物细胞表达的,而抗体片段则主要用大肠杆菌或噬菌体所表达的。在诊断及治疗,特别是肿瘤的诊断及治疗上,功能抗体片段显示其特殊的优越性。小鼠 IgA PMC 603 在与抗原结合时或不与抗原结合时的晶体结构已研究得很清楚。通过对这个抗体的研究,掌握了抗体各个区段的基本特征。

1. 嵌合抗体(Chimeric antibodies)

嵌合抗体的制作通常是把分泌高亲和力抗体的鼠杂交瘤细胞株中分离到的 V 基因(VH 和 VL)连接起来,在骨髓瘤或杂交瘤细胞内表达出含鼠 Fv 和人 Fc 片段的杂合分子。通常使用人 IgG1 之 Fc^[1]。但有时必需用其它种类 Ig 之 Fc 才能激发其效应物功能。将特定 VH、VL 接到另一种 Fc 上,可以达到以下几种目的^[2]: a. 在同种内产生同型转换变化(isotype switch variants)。b. 产生杂种嵌合抗体,将 Fc 从一个物种转换成另一个物种。c. 提高 Fc 效应功能。d. 产生新的分子以改变 Fc 效应功能。

嵌合抗体为我们研究抗体各个区域(domain)结构与功能的关系,蛋白质区域折迭等提供了良好的模型。第一个人-鼠嵌合抗体是 Morrison 等在 1984 年制作的针对半抗原磷酸胆碱(Phosphocholine, PC)的全抗体分子^[3]。它是用小鼠骨髓瘤细胞表达的。糖基化的 H₂L₂ 使用了人 γ_1 和 κ 分子,它能与半抗原 PC 结

合,并与金黄色葡萄球菌蛋白 A 反应。与此同时, Boulianne 等将来源于杂交瘤的对 TNP (trinitrophenyl) 专一的单抗 V 区基因与人 μ 链和 κ 链 C 基因连接起来表达的嵌合抗体,有激活补体级联效应的功能。后来将源于鼠的抗 NP 之 VH 与 ϵ 连接^[4],使用鼠 λ 链制成的嵌合抗体,能与 NP 结合并能与人 Fc 受体反应,触发了抗原的降解和组胺的释放。将 NP 专一性抗体 Fv 连接到人的各种重链 Fc 上,在 J 558 L 细胞株中表达出了各种嵌合抗体。与预期相同,这些抗体均正确糖基化。除 IgA 外都能正确装配和分泌,分泌的 IgA 是一种混合组分,包括 H、HL、H₂L₂ 和 (H₂L₂)₂。IgG1、IgG2 和 IgG4 能与蛋白 A 结合, IgM、IgE、IgA 或 IgG3 不能与蛋白 A 结合; IgM、IgG1 和 IgG3 能与 C_{1q} 结合,而 IgG2、IgG4 不能; IgG3 与 C_{1q} 结合能力比 IgG1 大,但在补体激活功能方面 IgG1 要强得多,且 IgG1 在抗体依赖性细胞介导的细胞毒性的触发能力也比 IgG 强得多。所有这些特性都与人 Fc 功能一致。

将同一抗体的 Fab 嫁接到不同的物种以及不同抗体的 Fc 上得到一些非常有趣的结果。将鼠抗-DNS 单抗的 Fab 接到鼠不同的 Fc 上,发现 IgG1、IgG2a、IgG2b 和 IgE 等各种抗体 Fab 的片段的柔性及激活补体的能力都不相同。Fab 的片段的柔性及绞链区从 CH1 到第一个(重)链内的二硫键之间的长度正相关^[5]; 人 IgG2 不能活化人或猪补体,而能活化兔补体;小鼠 IgG 既能活化兔和人补体,但不能活化猪补体。这些结果有利于我们了解各种不同物种间免疫应答反应的一些最基本的问题。

将人-鼠嵌合抗体 IgG 3 重链不同区段缺失。如缺失 CH 1、hinge + CH 1、hinge + CH 2、CH 1 + hinge + CH 2, 并在鼠骨髓瘤细胞株中进行表达, 结果发现: 缺失 CH 2, 细胞只合成短的重链, 但能够分泌装配好的 H_2L_2 ; 当缺失 hinge + CH 2 时, 只能分泌出装配好的 HL; 缺失 hinge + CH 1, 或将 Fv 直接接上 CH 3, 均不能装配。IgG 绞链区长度决定了 Fab 的柔性以及会影响 IgG 与补体、Fc 的结合^[6]。人四种 IgG 在绞链区氨基酸长度变化很大。IgG 3 有四个外元编码很长的绞链区(后面三个片段相同), 因此分子柔性很大, 具有很好的固定补体的能力。IgG 4 仅有一个外元编码的很短的绞链区, 分子柔性差, 不能固定补体。改变 IgG 3 绞链区长度, 要使补体活化, 至少要保留一个外原编码的绞链区, 且(重)链内二硫键也是非常关键的。而将 $\gamma 3$ 绞链区长度改为五个 exon 编码, 也会降低补体活化能力。只保留两个相同的外原编码的绞链区活化补体能力比天然 IgG 3 更强。用 IgG 4 的短的绞链区代替 IgG 3 的绞链区也会降低补体活化能力。

对半抗原 TNP 专一的人-鼠 IgM 可以与 $C_1(C_{1q}, C_{1r}, C_{1s}$ 复合体)结合并激发补体依赖的细胞裂解能力。令人惊奇的是人-鼠 IgM 单抗与 C_1 的结合比人-鼠嵌合 IgM 效率更高, 但嵌合抗体向 TNP-SRBC 靶位集中的效率提高了 17 倍。人们早已知道, 抗体与补体结合是在 CH 2 区。Duncan 和 Winter 利用点突变的办法证明鼠-鼠嵌合抗体 IgG_{2b} 有三个氨基酸残基与 C_{1q} 结合有关^[7]。它们是 Glu 318, Lys 320 和 Lys 322, 这三个氨基酸在各个物种间高度保守。包括人 IgG; 大鼠 IgG 2 b、IgG 2 c; 小鼠 IgG 2 a、IgG 2 b 和 IgG 3; 猪 IgG 1 和兔 IgG 等, 仅在三种动物的同型间有同源性变化, 小鼠 IgG 1 (Arg 322), 大鼠 IgG 1 (Thr 318, Arg 320), 大鼠 IgG 2 a (Thr 318), 将这三个氨基酸突变成 Ala, 与 C_{1q} 的结合活性降低 30 倍; 将 Glu 318 $\rightarrow$ Thr, LYS 320 $\rightarrow$

Arg, LYS 322 $\rightarrow$ Arg, 该 IgG 2 b 与 C_{1q} 结合及补体溶解活性均保持不变; 而将 Glu 318 $\rightarrow$ Val, Lys 320 $\rightarrow$ Gln, lys 322 $\rightarrow$ Gln 则失去与 C_{1q} 结合及补体溶解活性; 仅将 Arg 320 $\rightarrow$ Gln, 该抗体与补体结合能力不变, 但补体溶解能力大大降低。这表明补体结合与补体触发级联并不是同一事件, 补体活力可能与补体结合的空间定位有关。

抗原-抗体复合物必需通过 Fc 受体 (FcR) 才能激发出抗体依赖的细胞毒^[8]。嵌合人-鼠 IgG 1, IgG 3 与 Fc 受体结合的能力最强, 大约是 $10^{-9}M^{-1}$, IgG 4 低 10 倍, IgG 2 检查不出结合活性。FcR 在各种淋巴细胞中表达。利用嵌合抗体研究的结果表明: FcR 与 Fc 的结合在 CH 2 近绞链区端至绞链区 224 位氨基酸残基附近。CH 2 的顶端必然有一定柔性才能与 FcR I 结合, 与单核白细胞的结合实验表明: FcR I 与 IgG 1 的结合主要在绞链区, 包括 Leu 234-Pro 238。FcR I、FcR II 和 FcR 10 主要对人 IgG 1, IgG 3 专一。人 FcR I 对小鼠 IgG 2 也有很高的专一性, 它们均含有相同的 Leu 234-Leu-Gly-Gly-Gly-Pro 238。Duncan 等将嵌合抗体 IgG 2 b 点突变, 将 Glu 235 变成 Leu 235 后, 发现鼠 IgG 2 b 与人 FcR I 结合能力提高 100 倍以上, 达到了人 IgG 1 同样的结合常数。若将 Leu 234-Leu 235 之间的肽键用 Pepsin 打断, 抗体则失去与 FcR I 结合的能力。

在治疗上, 嵌合抗体比鼠抗至少有两个优点^[9]: 首先, 可以选择效应物功能并进行裁剪。例如, 人 IgG 1 和 IgG 3 与补体结合力最强。其次, 避免同型抗体的产生。

2. 人源化抗体 (Humanized antibody)

使用人抗体会减少抗独特型反应, 其制作过程如下: 将齧齿动物抗体的抗原结合位点 (主要是 CDRs) 嫁接到人 Fv 的支架上, 再将人抗体 Fv 支架适当改造 (点突变) 以保证抗原-抗体结合所需要的正确构象的形成, 成为人的 Fv, 最后将该 Fv 与人 Fc 连接或者与其

它效应物(e, g. 同位素, 毒素)连接而得到多种改造的人源化抗体。Riechmann 在 1988 年成功地制成了人源化抗体 IgG 1、IgG 2、IgG 3 和 IgG 4^[10]。这些抗体与抗原结合能力与母体鼠抗相同, 但其效应功能很不一样: IgG 1、IgG 3 有很强的激发补体裂解活性; IgG 4 则基本测不出; IgG 1 能产生 ADCC 效应, IgG 3、IgG 4 这种效应较差, 而 IgG 2 基本测不出。这些结果表明: 人源化抗体既能保证其与抗原结合的专一性与亲和力, 又能保证其行使其正常的效应功能^[10]。通过这种嫁接的办法, 可以生产出许多抗淋巴细胞, 抗受体及抗独特型的抗体, 这必将在克服器官移植时的免疫排斥、自身免疫疾病和肿瘤治疗中发挥越来越重要的作用。

3. 功能抗体片段(Functional antibody Fragment)

(1) Fab 片段 无论来源于单抗 PMC 603 的 Fab、Fab' 片段, 还是重组的 Fab 片段, 都具有全抗体相同的抗原结合活性, 糖基对抗原与抗体的结合没有影响^[11]。其它重组 Fab 与其类似。

(2) Fv, ScFv 片段 Fv 很难用化学裂解法制备, 与全抗体相对比, 抗原结合能力及稳定性降低。其原因是两条链仅靠分子间作用结合, 容易解聚。将 Fv 之 VL 及 VH 连接起来, 形成的 ScFv 则可恢复全抗活力。将 ScFv 与毒素或其它蛋白融合, ScFv 与抗原结合能力保持不变, 且毒素或其它蛋白保持原有生物学活性。这说明抗体片段和其他蛋白片段是分别独立折迭的。近年来, 越来越多地使用抗体库克隆以获得“纯人”抗体, 其结果是得到的 VH 与 VL 随机组合的 ScFv, 它具有完整抗体的很高的结合活性^[12]。

(3) 单结构域 VH 或 VL 情况较为复杂, 有些抗体 VH 没有抗原结合能力, 但来源于抗体库的抗溶菌酶抗体 VH 保持较好的抗原结合能力和较好的专一性。单独 VL 有聚合倾向, 没有结合抗原的能力, 但易得到很好的结

晶, 便于通过基因工程改造的办法研究 CDR 特性。一般认为, 单独的 VH 有较好的抗原结合能力和相对较小范围内的专一性。

二、基因工程抗体在研究和治疗上的意义

1. 免疫毒素有在(肿瘤)治疗中的作用

在抗体分子上接上放射性同位素、细胞毒素、破坏细胞特殊结构的酶或药物而形成的对肿瘤或淋巴细胞有特异性杀伤作用的复合物, 我们通称免疫毒素或生物导弹。免疫毒素在肿瘤的早期治疗有重要作用^[1]。对于晚期癌症在经手术、化疗后用免疫毒素治疗也是一种非常有效的手段。过去用鼠单抗制作免疫毒素遇到了以下一些问题^[1]: a. 产生人抗鼠抗体(HAMA)。b. 鼠抗固定补体的能力很弱, 特别是 C_{1q}, 故细胞致死能力很弱。c. 它需要在体内组织的抗原密度很高。d. 由于主要采用全抗, 其 Fc 可与体内多种效应结合, 因而导向性差, 常与正常组织结合。e. 作为半抗原载体而在体内诱发抗体。

基于上述原因, 基因工程抗体越来越受到人们的重视。

LoBuglio 等用了七种人-鼠嵌合抗体制成的免疫毒素治疗肿瘤, 发现其中四种无免疫原性, 两种有弱的免疫原性, 还有一种未引起 HAMA 反应^[13]。

Fv、Fab 在体内极易清除, 半寿期仅 10—60 分钟。F(ab)'₂ 半寿期也仅比 Fv、Fab 长一倍, 因此即使异源 Fv、Fab 也可用于治疗。抗体片段在肿瘤诊断和治疗中比全抗具有无比优越性: 减少了抗原性; 由于缺少 Fc 介导的受体结合, 更能快速向肿瘤集中。在 ScFv、Fab 接上毒素、放射性同位素等, 在临床上, 特别是肿瘤治疗上具有很大的潜力。

以前人们将所得的全抗体与毒素蛋白进行化学交联, 它能选择性地杀死肿瘤细胞或淋巴细胞。这样的免疫毒素制作困难, 只允许用于治

疗肿瘤或自身免疫疾病的病人。但至今收效不大。其主要原因在于化学交联的免疫毒素的异源性和不稳定性太大,且一般交联的生物毒素主要是抑制核糖体的蛋白质合成的延伸因子,这些毒素有个胞质内部化的过程,因而往往在杀死细胞之前就已失活。而用基因工程抗体片段制作的免疫毒素系列可以交叉使用。Chovnik等人将抗 Tac 抗体(可以与 IL-2 受体 p55 链结合) Fab 与 梭状芽孢杆菌 磷脂酶 C(PLC) 融合,利用 PLC 的细胞膜溶解作用,仅 0.02 nM 浓度对蛋白质合成抑制率即可高达 50%。将 PE 40 融合到 anti-Tac(Fv) 上的毒力可比 anti-Tac-PLC 强 12 倍^[14]。尽管其融合表达不像 anti-Tac(Fab)-PLC 为分泌型而是包含体,需要经过变性和重折叠的过程。

肿瘤抗原复杂多变,用常规方法制备的单抗往往亲和力低,在体内不能很好的定位。肿瘤相关抗原(Tumour-associated antigen, TAA)很难确定、纯化。利用抗体库克隆技术可以很方便地拿到针对肿瘤病人不同抗原,不同决定簇的功能抗体片段。其方法是从肿瘤病人身上取出外周血或直接用肿瘤细胞免疫小鼠后取脾脏,以“通用”引物 PCR 扩增所得 VH 和 VL 基因直接用噬菌体进行功能性表达,将这些噬菌体与肿瘤细胞或细胞匀浆结合,粗筛出能与肿瘤细胞高亲和力结合的噬菌体,从而得到抗肿瘤抗原的功能抗体片段。将所得噬菌体克隆化,表达出功能抗体片段,这些片段可用于肿瘤的早期检查,将这些片段标记上同位素可用于肿瘤的放射性造影和治疗;或接上药物或细胞毒素等可直接用于治疗。用肿瘤细胞免疫可同时拿到多个针对不同抗原的噬菌体,从而可以得到多种单抗片段,由于肿瘤抗原多变,在治疗时可以交叉使用。用已知抗原从抗体库中筛选抗肿瘤的功能抗体片段已获得成功^[15]。Zebedee 等人利用抗体库克隆技术得到了能表达有功能的抗乙肝表面抗原(HBsAg)的 Fab 片段,它在乙肝治疗中必将发挥重要作用。目前已有人将肿瘤坏死因子(TNF- α)和其他淋巴因

子接在抗肿瘤单抗上,用于免疫治疗^[16]。总的来讲,基因工程抗体片段制成的免疫毒素有如下优点:制备简单,有效,可以避免化学交联;可以制备出常规不能制备的肿瘤专一性抗体;分子小,清除快,导向性好,这在肿瘤早期诊断和肿瘤造影,晚期体内癌细胞的专一性消除,有着特殊意义;可直接使用人抗体或人化抗体,消除了鼠抗的免疫原性;可同时制备出多种抗体,多种免疫毒素,便于交叉使用。

2. 抗独特型抗体, 抗受体抗体(anti-idiotope, anti-receptor antibody)

抗独特型抗体既然是抗原受体 V 区的抗体,自然在免疫治疗中会越来越显示出其重要性和优越性^[17]。这主要表现在:内在影像可以取代那些价格昂贵,分离纯化困难,对机体有毒性或抗原性很弱的抗原;应用细胞受体的配体(比如激素,神经递质等)免疫后,通过 Id 获得的 AId 中获得抗受体的抗体。可以用于多种疾病的治疗。

传统的制备 AId 的办法是用抗原(或配体)免疫动物制成单克隆抗体(Ab 1),再用这些 Ab 1 免疫动物制备单抗 Ab 2(AId),如法可制备 Ab 3...,每一级都要经过一次单克隆的过程,筛选困难,耗时很长。利用抗体库克隆技术可以很快得到各级功能抗体片段。

功能抗体片段 Id, AId 很容易结晶,便于作 X-光衍射分析,为我们研究蛋白质与蛋白质的相互作用,抗原与抗体(配体与受体)的相互作用提供了一个良好的模型。近来的研究表明,Id-AId 的相互作用只涉及 V 区表面少数几个氨基酸侧链,主要是一种“面”上的关系,仅在某些情况下类似酶与底物的“锁钥”关系。Ab 3 能够很好地模拟 Ab 1,但在序列上仅有几个氨基酸的差异。因此,在 Id-AId 晶体结构分析基础上,配合 Ab 1, Ab 2, Ab 3 序列分析(cDNA 序列),就可以建立一个配体-受体作用的构象库和序列库,直接指导我们从已知抗体通过点突变或 CDR 嫁接,表达出特殊蛋白(抗体、抗原、受体或酶)的抗独特型功能片段。

抗独特型疫苗在疾病治疗,特别是肿瘤治疗、器官移植中的免疫抑制和自身免疫疾病治疗中有着重要意义。

抗细菌、病毒抗原的独特型抗体:

这种抗体主要用于以下几个方面^[17]:

(1) 免疫性弱但又是重要的细菌抗原。

(2) 诱发幼儿期抗菌免疫,那时免疫系统尚未完全成熟,不能对多糖起反应。

(3) 难于获得或纯化的有毒的细菌抗原。

例如,假担孢菌至今没有很好的疫苗,最近报道了模拟该种菌 O-特异的脂多糖侧链 AId。能保护嗜中性粒细胞减少的小鼠不发生致死的假担孢败血症。

(4) 有些人对某些抗原不会发生免疫应答反应(例如: HBsAg),从而致病,最近报道制成的乙肝表面抗原的抗独特型疫苗可以使黑猩猩产生保护性抗体,在病毒攻击时不发生肝炎。

抗独特型抗体与肿瘤治疗:

肿瘤相关抗原很难确定,纯化。作为自身抗原,大多数 TAA 免疫原性极差。不论在体外或体内 Ab 2 能够在功能上很好地模拟 TAA^[18];用 Ab 2 代替 TAA 有极大的优越性:安全;专一性好;容易大量制备;可以跨越物种屏障;打破对 TAA 的免疫耐受。目前用抗独特型抗体治疗肿瘤虽已经取得了令人可喜的进展,但未能广泛推广,其原因主要是制备抗独特型抗体的时间长,耗资大。基因工程抗独特型抗体更易制成各种免疫毒素,因此可能有广泛的应用前景。

针对免疫系统的基因工程 AId 在治疗中的作用

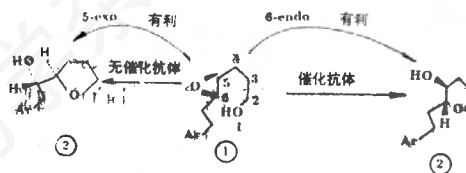
自身免疫疾病大致是发生在两个层次:一为 Id、AId 之间的平衡。例如:内关风疾病。再即 Id 或 AId 模拟了抗原(或配体),而引起刺激或抑制作用。例如 goaves 病,重症肌无力,某些抵抗胰岛素的糖尿病及多种受体病。引入 Id 或 AId 治疗可使病情得以缓解。

在异体器官移植中为了克服免疫排斥,需将宿主免疫系统抑制到最低活性状态。用大剂

量头孢菌素等抗生素因毒性太大,会给病人许多器官带来不同程度的损害。而抗淋巴细胞受体的抗体显然具有无可比拟的优越性。比如:抗 T 细胞受体(T cell Receptor, TCR)抗体,抗 CD 4 抗体等,可大大抑制免疫系统的活力。抗 CD 4 抗体由于可以模拟爱滋病毒(HIV)糖蛋白 gp 120,从而可以保护 CD 4⁺Th-细胞免受 HIV 的攻击。

3. 酶联抗体和催化抗体(Catalytic Antibodies)

酶促反应具有高效、条件温和及立体专一性强等许多优点。而通常的有机化学反应的特点是反应时间长,条件苛刻(如高温、低温、溶剂毒性大、易燃易爆等)、副反应多、立体专一性差的特点。科学家们多年以来梦寐以求用酶催化通常有机化学反应。然而直接使用天然酶是很困难的。近年来,用模拟过渡态的分子免疫动物,制备出具有催化活性的单抗已用于多种化学反应,包括酯的水解、三苯甲基的水解、酰胺键的形成、底尔-亚特(Diel Alder)反应、克莱逊重排(Claissen rearrangement)、2+2 环加成反应等标准有机化学反应^[19]。最近利用抗体酶催化了可咖啡因的分解、以①为底物的四羟吡喃右②的合成,而标准化学反应服从巴尔德温定则(Baldwin's ruler)生成四羟吡喃左②,可见抗体酶的发展有可能改变整个化学工业的格局。



抗体酶的常规制备方法是模拟“过渡态”类似物的半抗原接在一个载体分子上(通常是 BSA)免疫动物,制备出具有催化活性的单抗。而采用基因工程的方法可以灵活、多变的生产出各重功能不同的抗体酶。

首先,可以将一个已知的酶分子嫁接到特

异抗原专一性的抗体或抗体片段上,从而得到酶联抗体。这种酶主要用于体内治疗(也就是免疫毒素)。例如, anti-Tac-PLC 等(酶联催化)。

其次,用过渡态类似物免疫动物后,直接用库克隆技术得到催化抗体功能片段,目前 lerner 等人已经建成了这样的组合文库。

再则,功能片段分子 Fab 与底物结合后,容易得到结晶,便于研究抗体酶在催化过程中的立体构象,当这样的数据积累到一定数量后,我们可以根据过渡态的特点建立一个数学模型,利用定点突变直接改造已知抗体而得到抗体酶。有关这方面的工作才刚刚开始。

参 考 文 献

- [1] Pietersz, G. A., 1992, *Immunol. Rev.*, 129: 57.
- [2] Morrison, S. L. et al., 1985, *Science*, 229: 1202.
- [3] Morrison, S. L. et al., 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 81: 6851.
- [4] Neuberger, M. S. et al., 1985, *Nature*, 314: 268.
- [5] Danger, J. L. et al., 1988, *EMBO J.*, 7: 1989.
- [6] Morrison, S. L. et al., 1989, *Adv. Immunol.*, 44: 65.
- [7] Duncan, A. R. & Winter, G., 1988, *Nature*, 332: 738.
- [8] Shen, L. et al., 1987, *J. Immunol.*, 139: 534.
- [9] Riechmann, L. et al., 1988, *Nature*, 332: 323.
- [10] Riechmann, L. et al., 1988, *J. Mol. Biol.*, 203: 825.
- [11] Skarra, A. et al., 1988, *FEBS Lett.*, 271: 203.
- [12] Huse, W. D. et al., 1989, *Science*, 246: 1275.
- [13] LiBuglio, A. F. et al., 1991, *Monoclonal antibodies, Applications in clinical oncology*. pp 291 (Chapman and Hall Medical).
- [14] ChovniK, A. et al., 1991, *Cancer Res.*, 51: 465.
- [15] Mnlilax, R. L. et al., 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 87: 8095.
- [16] Hoogenboom, H. R. & Winter, G. 1992, *J. Mol. Biol.*, 227: 381.
- [17] 叶敏, 1994, 免疫网络, (待发表).
- [18] Zanatti, M. et al., 1992, *Immunol. Rev.*, 130: 125.
- [19] Danishefsky, S. 1993, *Science*, 259: 469.

支原体污染研究的新进展

刘 江 刘龙丁 孙明波

(中国医学科学院医学微生物学研究所 昆明 650107)

支原体污染细胞培养物是个极普遍的世界性问题,在十几年前就曾引起我国细胞培养工作者的广泛重视。它不仅引起细胞生物学性状的多种改变,影响细胞生物学的研究工作,而且也将导致用细胞基质制备的多种生物制品报废,造成巨大的人力物力浪费。多年来从事细胞生物学研究以及生物制品学工作的科学家们一直致力于检测细胞培养物中支原体方法的研究。

尤其是近几年来,分子生物学飞速发展,新技术新方法不断被应用,支原体的检测及防治取得了令人瞩目的成就。本文对有关的新进展作一概括介绍。

首先是对支原体生物学特性的研究,在新种分离、致病机理和分子生物学等方面都有了飞速的发展。迄今发现的支原体已达 80 余种,1986 年首次报道的 *M. incognitus* 与 AIDS 病