科 学 通 报
第 42 卷 第 24 期 Chinese Science Bulletin 1997 年 12 月

【研究通讯】

人单链抗体筛选新方法
——噬菌体抗体库活细胞靶向筛选

传统的抗体导向治疗虽然在动物体内显示出抑瘤作用,但对人体肿瘤效果不佳. 其主要原因在于鼠源抗体能引起人抗鼠抗体反应,达到肿瘤内部的药量不足以及肿瘤细胞抗原异质性. 以肿瘤血管而不是肿瘤细胞为靶的抗体导向治疗新策略与抗体基因工程相结合,选择小分子人抗体功能片段取代完整鼠抗体,是近年来肿瘤抗体导向治疗研究的热点之一. 本文介绍一种以活细胞为靶从人抗体库中筛选细胞特异性抗体的新方法. 其特点是不需要纯化抗原,能够较好地保持抗原的天然构象,适用于新抗原的筛选和鉴定. 以肝癌细胞培养上清多次传代培养激活的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)为靶细胞,对半合成人单链抗体库进行 4 轮"吸附-洗脱-繁殖"筛选,将与内皮细胞结合的重组噬菌体感染大肠杆菌 TG1,涂板挑选单菌落,在含 100 μg/mL 氨苄青霉素的 2xTY 中振荡培养 20 h,收集上清,即为噬菌体抗体. HUVEC 培养于 96 孔板上,95% 乙醇固定. 相继加入重组噬菌体抗体和 HRP-抗 M13 进行 ELISA 检测. 为筛选内皮细胞特异性的重组噬菌体抗体,阳性克隆再与人胎儿支气管上皮细胞,胰导管上皮细胞和成纤维细胞进行 ELISA 交叉反应.

用培养的 HUVEC 对噬菌体人单链抗体库进行 4 轮筛选后,与内皮细胞结合的重组噬菌体富集了 10^3 倍. ELISA 结果表明 63%(58/92)的克隆与内皮细胞呈阳性反应($A_{490} \geqslant 0.5$). 经与上述 3 种其他细胞进行 ELISA 交叉反应,其中有 3 个克隆显示较强的抗血管内皮细胞特异性. 免疫细胞化学鉴定结果显示这些重组噬菌体人单链抗体能与 HUVEC 细胞膜特异性结合,其中一株(H88)的反应最强.

本研究的初步结果提示用培养的活细胞从噬菌体抗体库中筛选特异性单链抗体的方法是可行的. 建立的方法亦可用于其他类型细胞相应抗体的筛选,尤其是针对尚未纯化的细胞膜抗原更为适用. 我们获得的抗血管内皮人单链抗体为研究以肿瘤血管为靶的导向治疗提供了载体材料,有关人单链抗体 H88 的可溶性表达和纯化以及进一步鉴定正在进行中.

致谢 本工作为国家"八六三"计划基金(102-09-0204)资助项目.

李建生[①] 阎锡蕴[①*] 李 力[②]
袁 玫[②] 田 波[①]
(①中国科学院微生物研究所,北京 100080;②中国人民解放军总医院基础研究所,北京 100853. *联系人)

【论著评介】

评《子波变换与子波分析》

莫玉龙
(上海大学通信与信息工程学院图象处理与模式识别室,上海 201800)

(《子波变换与子波分析》. 赵松年 熊小芸 著. 北京:电子工业出版社, 1997. 页码:150 页. 定价:18 元)

在应用数学中,子波分析是当前现代分析学中两大重要分支之一. 它含有非常丰富的数学内容和极其优美的内在性能,因此它蕴含着巨大的应用潜力. "子波"已成为各个领域的科