科 学 通 报
第 42 卷 第 12 期 Chinese Science Bulletin 1997 年 6 月

【综合评述】

人抗体库技术

阎锡蕴 田 波
(中国科学院微生物研究所,北京 100080)

关键词 人抗体库 噬菌体 PCR 技术

90 年代兴起的人抗体库技术从广义上讲,应包括噬菌体人抗体库技术和人抗体转基因小鼠. 由于该技术具有生产人抗体的潜力,因此,吸引了越来越多的科技工作者投入这一领域的研究,使得人抗体工程的研究在短短几年内发展极为迅速,已成为现代生命科学研究的热点之一. 本文将着重介绍人抗体库技术的最新研究进展,并对其存在的问题及今后的研究热点进行了分析.

1 噬菌体人抗体库

1.1 噬菌体人抗体库的种类及特点

噬菌体人抗体库技术综合运用了(ⅰ)大肠杆菌表达具有生物活性的抗体功能片段[1~5];(ⅱ)PCR 技术扩增抗体可变区基因[6,7];(ⅲ)噬菌体抗体展示技术(Phage display system)[8~11].

研制噬菌体人抗体库的基本方法包括从人外周血淋巴细胞或脾细胞中提取 RNA 或基因组 DNA. 设计核苷酸引物,用 PCR 方法扩增全套人抗体基因片段[12~14]. 经过随机重排组合,将这些基因插入到噬菌体或噬粒表达载体中,与噬菌体外壳蛋白基因融合,感染大肠杆菌并使抗体片段表达展示于噬菌体的表面[15~21],形成含有全套人抗体谱的噬菌体抗体文库. 库中每个噬菌体相当于 B 细胞表达一种特异人抗体.

人抗体库技术能够体外模拟抗体的形成过程,例如基因重排、抗原"高压"选择、链替换和体细胞高突变等. 它绕过了免疫人体和杂交瘤技术,为生产人抗体提供了新的有效途径. 与杂交瘤技术比较,该技术具有以下优点:(ⅰ)不需要免疫人和动物;(ⅱ)抗体工程菌比杂交瘤细胞稳定,易于保存;(ⅲ)具有高效免疫筛选体系;(ⅳ)能够模拟抗体亲和力成熟过程,获得高亲和力抗体;(ⅴ)适应于大规模工业化生产;(ⅵ)能够生产人抗体.

根据抗体基因的来源和组成的不同,人抗体文库大致可分为以下 3 种:(ⅰ)天然抗体文库[22~25](Naive antibody library):抗体基因片段来自于未经免疫的供体,该库基本上代表了供体体内天然的抗体谱;(ⅱ)免疫抗体文库[26,27](Immunized antibody library):抗体基因来自于经抗原免疫过的供体. 该库的特点是具有较强的抗原特异性和亲和力;(ⅲ)半合成抗体文库(Semi-synthetic antibody library):抗体重链可变区基因片段中的 CDR1 和 CDR2 来自于人胚系 49 种 V_H 片段,而 CDR3 则是人工合成编码 5~8[28]或 6~15[29]个氨基酸的随机序列. 其特点是库容量大,可达到 10^{12}. 但由于该库中的抗体基因没有经过人体内免疫系统的选择,因此抗体的亲和力普遍较低. 另外人工合成的 CDR3 有可能增加抗体的免疫源性.

从上述噬菌体人抗体库的特点,我们不难看出,每种抗体库在多样性与高亲和力方面都有所侧重. 至于构建什么样的抗体库,主要根据欲获得抗体的功能和用途而定. 目前认为影响

抗体库容量的主要因素是抗体引物的多样性与细菌转化率的限制. 影响抗体亲和力的主要因素在于库容量的大小和抗体基因的成熟度. 因此研制大容量兼高亲和力抗体库仍然是今后抗体工程的研究热点.

1.2 免疫亲和筛选新策略

噬菌体人抗体库技术为快速选择特异抗体提供了简便而高效的可操作系统[30]. 从抗体库中筛选特异抗体有 4 个基本步骤:(ⅰ)噬菌体抗体吸附靶抗原;(ⅱ)反复洗涤去除非特异性结合;(ⅲ)洗脱并收集与抗原结合的噬菌体抗体;(ⅳ)再次感染大肠杆菌,使特异的噬菌体抗体富集. 在这种"吸附—脱洗—繁殖"淘选噬菌体抗体的基础上,新的抗体筛选方法层出不穷.

(1)噬菌体选择感染(Selection and amplification of phage,简称 SAP[31]或 Selectively infective phage,简称 SIP[32,33]). 这是根据噬菌体感染大肠杆菌的特点而设计的一套新技术. 我们知道每个丝状噬菌体的顶端有 3~5 个外壳蛋白Ⅲ(g3p),每个 g3p 分子按其功能分为受体区、穿膜区和疏水区,其中位于氨基端的受体区能够识别大肠杆菌的性菌毛,这是噬菌体感染大肠杆菌的物质基础. 在噬粒(Phagemid)为载体构建的抗体库中,噬菌体的包装是在野生型辅助噬菌体的作用下完成的,通常只有一个 g3p-抗体融合蛋白展示于噬菌体的表面,而其他 g3p 保持天然结构,因此能够感染大肠杆菌. SAP 技术的特点在于:(ⅰ)构建 g3p 氨基端缺陷型辅助噬菌体,这种辅助噬菌体提供的外壳蛋白Ⅲ缺乏受体区;(ⅱ)把编码 g3p 氨基端和编码抗原的基因融合,形成 g3p 氨基端与抗原融合蛋白. 用抗原融合蛋合对抗体库进行筛选,当重组噬菌体与抗原结合时才获得感染大肠杆菌的能力而进一步繁殖;不与抗原结合的噬菌体由于缺乏外壳蛋白Ⅲ的受体区而失去感染大肠杆菌的能力. 这种方法不需要把重组噬菌体转移到固相体系中去筛选,在很大程度上限制了非特异性噬菌体抗体的扩增,提高了特异抗体筛选的灵敏性. Duenas 等[31]报道该技术可以在 10^{11} 个非特异噬菌体中捕获一个特异的噬菌体抗体.

(2)固相淘选(Immobilized panning). 这是一种最常用的方法,它是将纯化的抗原固相于免疫管或塑料平皿表面[24]或制成亲和柱[23]进行免疫筛选. 其局限性在于靶抗原可能在铺板时部分失去天然构象.

(3)捕获淘选(Capture panning)[34]. 先将靶抗原特异的单抗或多抗固相于塑料平皿内,然后加入靶抗原进行免疫筛选. 该方法克服了固相靶抗原淘选法的不足,较好地维持了抗原的天然构象,有利于获得对构象抗原表位敏感的特异抗体.

(4)完整细胞淘选(Whole cell panning). 特别用于细胞特异性抗体的筛选,并从中发现新的抗原. 这种方法首先将靶细胞制成单层或细胞悬液,而后用完整细胞对抗体库进行筛选. 这不仅省去了纯化抗原的烦琐过程,而且有利于保护靶抗原的天然构象. 但不足之处是细胞膜成分复杂,难以获得针对某一抗原的特异抗体. 目前解决这个问题的方法是在筛选靶细胞抗体时,先用相应的正常细胞吸附抗体库中那些与其结合的抗体,然后从非吸附正常细胞抗体库中获得靶细胞特异抗体. 国际上有些实验室用完整细胞淘选法获得了肺癌细胞、黑色素瘤细胞和红细胞等特异抗体[35,36]. 作者最近用肝癌细胞培养上清刺激后的人脐静脉内皮细胞作为抗原对人抗体库进行筛选,初步获得了人脐静脉内皮细胞特异性人单链抗体.

(5)组织淘选(Tissue panning). 这种方法用于一些获得单个活细胞较困难的组织特异抗体的筛选. 例如有些细胞在分离时易受蛋白酶或细胞培养条件的影响,可能使靶细胞失去原有的特性. 用组织淘选抗体可以克服上述不足. Ewijk 等人[37]曾用新鲜的胸腺组织作为

靶子成功地从人抗体库中淘选出特异抗体，同时还发现新的细胞抗原.

(6)器官淘选(Organ panning). Pasqualini 等[38]最近报道了用靶器官在人体内对噬菌体随机多肽库进行淘选，并从中获得与大脑特异结合的多肽.

1.3 人抗体亲和力的体外成熟

在人体免疫系统中，高亲和力抗体的产生是免疫应答过程中抗体链替换和体细胞高突变的结果[39]. 在抗原'压力'选择下，只有抗原特异性 B 细胞增殖分化，同时抗体可变区基因发生大量突变(Somatic hypermutation)，从而产生高亲和力抗体. 抗体亲和力的成熟仅仅涉及抗体可变区单个氨基酸的替换，而不是氨基酸的插入或丢失，也不改变抗体的特异性[40].

噬菌体抗体库技术能够模拟抗体亲和力成熟过程[41~43]，通过以下途径提高抗体亲和力.

(1)提高抗体库的质量. 增加抗体库的多样性[44]和选用经过免疫应答反应后的抗体基因是提高抗体亲和力的策略之一. 最近 Vaughan 等[25]从 43 个未经免疫的供体外周血淋巴细胞中获得抗体可变区基因片段，随机重排组合成库容量为 1.4×10^{10}的天然抗体库，其中抗体的亲和常数为 $K_d<10$ nmol/L. 这种兼高亲和力与大容量为一体的抗体库可能是今后的研究方向.

(2)链替换. Marks 实验室[45]从天然抗体库中筛选出一株 Phenyloxazolone 特异单链抗体. 通过 V_L 和 V_H 基因片段的替换和重排使该抗体的亲和力提高了 300 倍，即从 $K_d=300$ nmol/L提高到 1 nmol/L.

(3)点突变. 这是有目的进行氨基酸替换，适用于已知抗体序列中某些氨基酸影响亲和力. Sharon[46]曾经比较了两株特异性相同，而亲和力相差 200 倍的抗体可变区氨基酸序列，发现其中有 19 个氨基酸不同，他对低亲和力抗体 V_H 中某些氨基酸逐个进行点突变. 其中 3 个氨基酸的替换，分别在不同程度上提高了抗体亲和力. 随后他又将这三个氨基酸一起突变，结果使该抗体的亲和力提高了 200 倍. 虽然点突变是改善抗体亲和力的一种有效办法，但困难在于首先要对影响抗体亲和力的氨基酸有正确认识. 另外，抗体 CDR 区的氨基酸替换也可能改变抗体的其他特性[47,48].

(4)PCR 错配或随机突变技术[49~51]. 这是模拟体内抗体成熟过程的新技术. Winter 实验室[49]曾利用 PCR 错配或大肠杆菌突变株对抗体可变区基因进行大量随机突变，并从中筛选出高亲和力抗体，使抗体的亲和力提高 100～1 000 倍.

尽管提高抗体亲和力的新技术和成功的报道不断出现，然而如何有效地获取高亲和力抗体仍是人抗体库研究面临的重要课题，也是基因工程抗体能否应用的关键.

2 生产人抗体的转基因小鼠

动物生产人抗体有两种形式：(ⅰ)把人抗体单基因转入动物，如羊、鼠、牛等，使转基因动物的乳腺长期分泌含有人抗体的乳汁并从中纯化获得人抗体[52]. (ⅱ)含有人抗体基因谱的转基因小鼠，这也是所谓的体内人抗体库. 本文主要介绍后一种.

建立人抗体的转基因小鼠是一项极为复杂的综合工程[53,54]，它包括基因组工程、转基因动物和杂交瘤技术. 首先用人免疫球蛋白基因组取代小鼠免疫球蛋白基因组. 继而将含人抗体轻、重链基因组的小鼠与 SCID(Severe combined immunodeficiency)小鼠杂交，从中选择双转基因/双缺失的纯合小鼠. 这种转基因小鼠体内含有人抗体基因谱，相当于一个生产人抗体的工厂. 当小鼠受到靶抗原的刺激后，体内的 B 细胞将产生免疫应答反应，分泌相应的人抗体.

最后利用杂交瘤技术，把生产人抗体的小鼠 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合，建立分泌人抗体的杂交瘤系.

在这一研究领域 Cell Genesys 和 Genpharm 两个生物工程公司领先. 然而他们所采取的研究策略不同. Cell Genesys[55]是从 YAC 库中选用含有人抗体轻、重链位点的 YAC 克隆，将这些克隆分别导入 ES 细胞，获得含人轻、重链基因组的小鼠. Genpharm[56]公司首先将不连续的人抗体基因组联在一起，分别组建了抗体轻、重链小位点(Miniloci)，并将这些小位点注入小鼠胚胎原核中，获得含人轻、重链基因组的小鼠. 目前这两个生物工程公司都从人免疫球蛋白转基因小鼠体内获得了人抗体，并对抗体的特异性、亲和力以及生物效应进行了分析. 他们的研究结果均表明人抗体转基因小鼠能够对人抗原和其他抗原产生免疫反应，转基因小鼠的 B 细胞能够用于杂交瘤的制备，分泌完整的人抗体. 另外，转基因小鼠生产的人抗体具有较高的亲和力和一定程度的多样性. 最近 Cell Genesys 报道他们生产的人抗体将很快进入临床研究.

转基因小鼠不仅可以生产高亲和力的完整人抗体，而且为免疫球蛋白表达及调控方面的研究提供了动物模型. 但是该技术难度大，不易获得抗体多样性的转基因小鼠. 目前的技术水平还不能将人抗体的全部基因组替代小鼠的基因组. 另外，B 细胞成熟过程以及抗体基因重排和表达等诸多问题仍待解决.

3　人抗体库的应用与展望

无论是噬菌体人抗体库还是人抗体转基因小鼠，其目的都是生产用于治疗的人抗体. 克服鼠抗体产生的免疫原性以及人免疫血清来源短缺和污染问题. 另外，人抗体库技术为研究抗体成熟和表达调控以及分子间相互识别提供了研究体系. 应用噬菌体抗体库不仅能够生产具有识别功能的人抗体，如 ScFv，Fab 双功能抗体(Bispecific antibody)[57]微型抗体(Minibody)[58]等，而且还能够筛选和生产具有催化[59,60]和切割[61]功能的人抗体酶. 这些形态不同、功能各异的人抗体将应用于人类重要疾病的诊断和治疗.

然而，我们必须认识到，人抗体库技术目前仍处于发展阶段，有许多问题尚待解决. 例如，从人抗体库中生产的“人抗体”是否能够被人体接受而不产生免疫排斥反应. 提出这一问题是基于以下考虑，首先是：人抗体基因经过体外随机排列组合及诱变后，有些已经不完全保留抗体的原始状态. 另外，在半合成人抗体库中，人工合成的 CDR3 也可能潜在着抗体的免源性问题. 有待于临床检验证明实. 今后人抗体库的研究热点将是临床检验人抗体库的作用，进一步研制超大容量和高亲和力抗体库；在原核系统中表达完整抗体分子；进一步完善抗体亲和力和效应功能；大批量生产人抗体；尽快实现人抗体的治疗作用.

致谢　本工作为国家“八六三”基金资助项目.

参　考　文　献

1　Better M, Chang C P, Robinson R, et al. *Escherichia coli* secretion of an active chimeric antibody fragment. Science, 1988, 240: 1 041～1 043

2　Skerra A, Pluckthun A. Assembly of a functional immunoglobulin Fv fragment in *Escherichia coli*. Science, 1988, 240: 1 038～1 041

3 Cabilly S, Riggs A D, Pande H. Generation of antibody activity from immunoglubulin polypeptide chains produced in *Escherichia coli*. Proc Natl Acad Sci USA, 1984, 81: 3 274～3 280

4 Boss M A, Kenten J H, Wood C R. Assembly of functional antibodies from immunoglobulin heavy and light chains synthesised in *E. coli*. Nucleie Acids Res, 1984, 12: 3 791～3 797

5 Ward E S, Gussow D, Griffiths A D, et al. Binding activities of a repertoier of single immunoglobulin variable domains secreted from *Escherichia coli*. Nature, 1989, 341: 544～547

6 Saiki R K, Gelfand D H, Stoffel S, et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science, 1988, 239: 487～490

7 Orlandi R, Gussow D H, Jones P T, et al. Cloning immunoglobulin variable domains for expression by the polymerase chain reaction. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86: 3 833～3 838

8 Smith G P. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. Science, 1985, 228: 1 315～1 319

9 Cwirla S E, Peters E A, Barrett R W. Peptides on phage: a vast library of peptides for identifying ligands. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87: 6 378～6 382

10 Greenwood J, Willis A E, Perham R N. Multiple display of foreign peptides on a filamentous bacteriophage: peptides from plasmodium falciparum circumsporozoite protein as antigens. J Mol Biol, 1991, 220: 821～826

11 Bass S, Greene R, Wells J A. Hormone phage: an enrichment method for variant proteins with altered binding properties. Proteins, 1990, 8: 309～314

12 Tomlinson I M, Walter G, Marks J D, et al. The repertoire of human germline VH sequences reveals about fifty groups of VH segments with different hypervariable loops. J Mol Biol, 1992, 227: 776～789

13 Bird R F, Walker B W. Single chain antibody variable regions. Trends Biotech, 1991, 9: 132～136

14 Kabat E A, Wu T T, Reid-Meller M. Sequences of proteins of immunological interest. US Department of health and human services, US Government Printing Office, 1987

15 Parmley S F, Smith G P. Antibody-selectable filamentous fd phage vectors: affinity purification of target genes. Gene, 1988, 73: 305～310

16 Barbas C F, Kang A S, Lerner R A, et al. Assembly of combinatorial antibody libraries on phage surfaces: the gene Ⅲ site. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 7 978～7 982

17 Chang C N, Landolfi N F, Queen C. Expression of antibody Fab domains on bacteriophage surfaces. J Immunol, 1991, 147: 3 610～3 614

18 Kang A S, Barbas C F, Janda K D. Linkage of recognition and replication functions by assembly combinatorial antibody Fab libraries along phage surfaces. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88: 4 363～4 366

19 McCafferty J, Griffiths A D, Winter G, et al. Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains. Nature, 1990, 348: 552～554

20 Breitling F, Dubel S, Seehaus T, et al. A surface expression vector for antibody serecning. Gene, 1991, 104: 147～153

21 Garrard L J, Yang M, O'Conneil M P, et al. Fab asssembly and enrichment in a monovalent phage display system. Biol/Technology, 1991, 9: 1 373～1 377

22 Huse W D, Sastry L, Iverson S A, et al. Generation of a large combinatorial library of the immunoglobulin repertoire in phage lambda. Science, 1989, 246: 1 275～1 279

23 Clackson T, Hoogenboom H R, Griffiths A D, et al. Making antibody fragments using phage display libraries. Nature, 1991, 352: 624～626

24 Marks J D, Hennie R, Hoogenboom H R, et al. By-passing immunization: Human antibodies from V-gene libraries displayed on phage. J Mol Bio, 1991, 222: 581～597

25 Vaughan T J. Humam antibodies with sub-nanomolar affinities isolated from a large non-immunized phage display library. Nature Biotechnology, 1996, 14: 309～341

26 Mullinax R L, Gross E A, Amberg J R, et al. Identification of human antibody fragment clones specific for tetanus toxoid in a bacteriophage λ immunoexpression library. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87: 8 095～8 099

27 Zebedee S L, Barbas C F, Hom Y J. Human combinatorial antibody libraries to hepatitis B surface antigen. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89: 3 175～3 179

28 Hoogenboom H R, Winter G. By-passing immunization: human antibodies from synthetic repertoires of germ line segments rearranged *in vitro*. J Mol Biol, 1992, 227: 381～388

29 Kruif J. Selection and application of human single chain Fv antibody fragments from semi-synthetic phage antibody display library with designed CDR3 regions. J Mol Biol, 1995, 248: 97～105

30 Borrebaeck C A K. Antibody engineering, 2nd ed. New York: Oxford University Press, 1995

31 Duenas M, Borrebaeck C A K. Clonal selection and amplification of phage displayed antibodies by linking antigen recognition and phage replication. Bio/Technology, 1994, 12: 999～1 003

32 Krebber C, Spada S, Pluckthun A. Coselection of cognate antibody-antigen pairs by selectively infective phage. FEBS Lett, 1995, 337: 227～231

33 Pluckthun A. Selective infective phage (SIP): a mechanistic disection of a new method to select for protein-ligand interaction, In: IBC's Seventh Annual International Conference on Antibody Engineering, Coronado: USA, Dec 2～4, 1996

34 Sanna P P, Williamson A, De Logu A, et al. Directed selecton of recombinant human monoclonal antibodies to herpes simplex virus glycoproteins from phage display libraries. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92: 6 439～6 443

35 Cai X H, Garen A. Anti-melanoma antibodies from melanoma patients immunized with genetically modified antologous tumor cells: selection of specific antibodies from single-chain Fv fusion phage libraries. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92: 6 537～6 541

36 De Kruif J. Rapid selection of cell subpopulation-specific human monoclonal antibodies from a synthetic phage antibody library. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92: 3 938～3 942

37 De Kruif J. New perspectives on recombinant human antibodies. Immunology Today, 1996, 17: 453～456

38 Pasqualini R. Organ targeting *in vivo* using phage display peptide libraries. Nature, 1996, 380: 364～366

39 Allen D, Cumans A, Dildrop R K. Timing, Genetic requirements and functional consequences of somatic hypermutation during B cell developments. Immunol Rev, 1987, 96: 5～9

40 Goding J W. Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 3rd ed. New York: Academic Press Limited, 1996

41 Marks J D, Hennie R, Hoogenboom H R. Molecular evolution of proteins on filamentous phage, The Journal of Biological Chemistry, 1992, 267: 16 007～16 010

42 Gram H, Marconi L, Barbas C F, et al. *In vitro* selection and affinity maturation of antibodies from a naive combinatorial immunoglobulin library. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89: 3 576～3 580

43 Hawkins R E, Russall S J, Winter G. Selection of phage antibodies by binding affinity: mimicks affinity maturation. J Mol Biol, 1992, 226: 889～894

44 Griffith A D, Williams S C, Hartley O, et al. Isolation of high affinity human antibodies directly from large synthetic repertoires. The EMBO Journal, 1994, 13: 3 245～3 260

45 Marks J D. Bypassing immunisation: high affinity human antibodies by chain shuffling. Bio/Technology, 1992, 10: 779～783

46 Sharon J. Structural correlates of high antibody affinity: three engineered amino acid substitutions can increase the affinity of an anti-p-azophenylarsonate antibody 200-fold. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87: 4 814～4 817

47 Yan X Y, Houghtong A, Chapman P B, et al. Characterization of an Ig VH idotope that results in specific homophilic binding and increased avidity for antigen. J Immunology, 1996, 157: 1 582～1 588

48 Lim P L, Leung D T M, Chui Y L, et al. Structural analysis of a phosphorylcholine-binding antibody which exhibits a unique carrier specificity for *Trichnella spiralis*. Molecular Immunology, 1994, 31: 1 109～1 116

49 Low N M. Mimicking somatic hypermutation: Affinity maturation of antibodies displayed on bacteriophage using a bacterial mutator strain. J Mol Biol, 1996, 260: 359～368

50 Huse W D, Yelton D E, Glaser S M. Increased antibody affinity and specificity by codon-based mutagenesis. Intern Rev Immunol, 1993, 10: 129～135

51 Winter G, Milstein C. Man-made antibodies. Nature, 1991, 349: 293～299

科 学 通 报
第 42 卷 第 12 期 Chinese Science Bulletin 1997 年 6 月

【研究简报】

非自治时滞微分方程的渐近稳定性

庾建设
(湖南大学应用数学系, 长沙 410082)

关键词 时滞方程 稳定性 渐近稳定性

许多人口动力学模型都能转化为下列形式的时滞微分方程

$$\dot{x}(t) + \lambda x(t) + f(t, x(t-\tau_1), \cdots, x(t-\tau_m)) = 0, \quad t \geqslant 0, \tag{1}$$

其中具有生物意义的平衡状态被转化为(1)式的零解. 全文均假设 $\lambda > 0$, $\tau_i > 0 (i = 1, \cdots, m)$, $\tau = \max\limits_{1 \leqslant i \leqslant m} \tau_i$ 以及 $f \in C([0, \infty) \times R^m, R)$ 且满足

$$-a(t)M_t(-\varphi) \leqslant f(t, \varphi(t-\tau_1), \cdots, \varphi(t-\tau_m)) \leqslant a(t)M_t(\varphi), \quad t \geqslant 0, \tag{2}$$

其中

$$\varphi \in C_t(H) = \{\varphi \in C([t-\tau, t], R): \|\varphi\|_t = \sup_{s \in [t-\tau, t]} |\varphi(s)| < H\}, M_t(\varphi) = \max\{0, \sup_{s \in [t-\tau, t]} \varphi(s)\}$$

以及 $a \in C([0, \infty), [0, \infty))$. 由(2)式易知 $f(t, 0, \cdots, 0) \equiv 0$, 这表明 $x(t) \equiv 0$ 是(1)式的解. 方程(1)作为人口动力学模型已被广泛研究, 例如作为动物体内红血球补充的模型

$$\dot{N}(t) = -rN(t) + Pe^{-rN(t-\tau)}, \quad t \geqslant 0 \tag{3}$$

已被广泛研究(参见文献[1~4]). 文献[5]研究了它的更为一般的形式:

$$\dot{N}(t) = -\lambda N(t) + \sum_{i=1}^{m} P_i e^{-rN(t-\tau_i)}, \quad t \geqslant 0, \tag{4}$$

其中每个参数都是正数, 它有唯一正平衡点 N^* 满足 $\lambda N^* = \sum\limits_{i=1}^{m} P_i e^{-rN^*}$. 通过变换 $x(t) =$

52 Colman A. Therapeutic proteins from the milk of transgenic livestock. In: IBC's Seventh Annual International Conference on Antibody Engineering, Coronado, USA, Dec 2~4, 1996
53 Mosier D E. Introduction: Humanizing the mouse. Seminars in Immunology, 1996, 8: 185~247
54 Lonberg N. Human antibodies from transgenic mice. Intern Rev Immunol, 1995, 13: 65~93
55 Green L L. Antigen-specific human monoclonal antibodies from mice engineered with human Ig heavy and light chain YACs. Nature Genetics, 1994, 7: 13~18
56 Longberg N. Antigen-specific human antibodies from mice comprising four distinct genetic genetic modifications. Nature, 1994, 368: 856~861
57 Michael W. Bispecific antibodies in tumor therapy and in targeting vaccine. In: IBC's Seventh Annual International Conference on Antibody Engineering, Coronado, USA, Dec 2~4, 1996
58 Hu S Z, Raubitschek A. Minibody: A novel engineered anti-carcinoembryonic antigen antibody fragment (single-chain Fv-CH_3) which exhibits rapid, high-level targeting of xenotrafts. Cancer Research, 1996, 56: 3 055~3 061
59 Janda K D, Lo L C, Lerner R A. Chemical selection for catalysis in combinatorial antibody libraries. Science, 1997, 275: 945~948
60 Shokat K M, Schultz P G. Catalytic antibodies. Ann Rev Immunol, 1990, 8: 335~345
61 Fletcher M. Site-directed mutagenesis of an antibody to create a sequence specific abzyme ribonuclease, IBC's Seventh Annual International Conference on Antibody Engineering, Coronado, USA, Dec 2~4, 1996

(1997-05-05 收稿)