

单克隆抗体在兽医和畜牧中的 研究现状与展望*

欧 阳 琨

(西北农学院兽医系)

自Köhler, G.和Milstein, C. (1975)发表了“能分泌预定特异性的融合细胞连续培养物”以来,分泌单一抗体的杂交瘤技术(即单克隆抗体技术)在细胞生物学、免疫学、微生物学和寄生虫学等方面蓬勃兴起,发展异常迅速。现将近些年来在兽医和畜牧方面单克隆抗体(以下简称单抗)的研究现状和展望评述于后。

一、病原分群、分型方面的研究现状

利用单抗测定病原的抗原决定簇差异,可将同种病原分为不同的单抗群、型及亚型。利用抗新城疫病毒(NDV)Ulster 2 C毒株的9个单抗可将40个NDV毒株和分离物分为a—h 8个单抗群⁽⁴³⁾。在用11个单抗对15个马立克病毒(MDV)和火鸡痘疹病毒(HVT)作间接荧光抗体试验时发现⁽²⁵⁾,单抗T81是共同的;H19等8个单抗同MDV强毒株及弱毒株反应;单抗Y5仅与非病原性的MDV反应;单抗L78只同非病原性的HVT反应。在用21个抗兰舌病毒血清型17(BTV—17)的单抗同20个BTV血清型的放射免疫测定(RIA)试验中,发现有4个单抗只结合1个或少数几个BTV血清型,其中的1个单抗(6C2A.4.2)只对BTV—17有特异性,并具中和及凝集抑制活性。另外的17个单抗对全部或大部分BTV血清型有反应⁽²⁾。Letchworth等(1983)用RIA试验了22个抗BTV—17(怀阿明分离物)的单抗对21个来源不同的BTV—17分离物(怀阿明1个、加利福尼亚12个、密西西比4个、阿拉巴马2个、路易斯安那1个、阿肯色1个)的反应。发现以5D4A.9为代表的18个单抗及单抗8B2B.3同21个BTV分离物全部结合,以6D2A.7为代表的2个单抗只结合阿拉巴马的1个分离物,而单抗7D4D.13仅不结合加利福尼亚的1个分离物。单抗还用于狂犬病病毒、流感病毒、鼠白血病病毒、嵌沙样病毒、鼠乳头状瘤病毒以及轮状病毒的血清分型^(16, 28)。

二、有关中和抗原和被动保护的研究现状

抗口蹄疫病毒140s和12s的单抗的研究已获初步结果^(5, 32, 34, 50)。Simons等(1983)

*本刊编辑室收到此稿的时间:1985年1月26日。

试验了抗口蹄疫病毒的4个单抗,其中有4个在小鼠和培养的细胞上中和试验阳性。抗牛白血病毒(BLV)囊膜糖蛋白gp⁵¹的单抗能识别BLVgp⁵¹的8个抗原位点^(6,7)。在传染性试验和合胞体的中和试验中,已证明gp⁵¹的F、G和H位点与BLV的生物学活性有关,至少是其中的G位点暴露在BLV粒子的表面,可能是依赖补体的细胞毒性的靶子。在研究与犊牛腹泻有关病毒的试验中,已试验了抗轮状病毒的5个单抗,但均不能中和牛轮状病毒的传染性^(41,42)。抗委内瑞拉马脑脊髓炎(VEE)病毒囊膜糖蛋白(gp^{56c})的单抗,在小鼠的中和试验中,对大多数VEE血清亚型有明显的被动保护作用⁽³¹⁾。Wright等(1983)研制了抗牛巴贝斯虫保护性片段的3个杂交瘤,发现抗分子量为 44×10^3 抗原的单抗具有明显的被动保护作用。Iorio等(1983)建立的单抗中,有4个单抗对NDV有明显的中和作用,可使感染细胞的蚀斑减少90%以上。Shermen等报道了给未吃初乳的新生犊牛口服抗产肠毒素大肠埃希氏菌(ETEC)K99单抗预防新生犊牛腹泻的试验,取得了较明显的效果,特别是在临床脱水和死亡两项判定指标上与对照组相比,有显著差异(脱水— $P < 0.001$,死亡— $P < 0.001$)。在小鼠和绵羊抗兰舌病毒的被动保护试验中,单抗6C2A.4.2可被动保护新生小鼠和绵羊抵抗BTV—17的攻击⁽²⁷⁾。在抗禽球虫的单抗试验中,单抗C3、E5和B10可抑制球虫在细胞内的发育⁽¹⁰⁾。

三、有关诊断和流行病学调查方面的研究现状

常规抗血清在用于诊断方面常有某些难以克服的弊病,如可能存在种间交叉反应,或免疫动物本身可能存在某种与诊断有关的高滴度抗体,或者对种内所有毒株缺乏普遍的特异性。这样,有可能出现误诊。单抗可消除这些弊病,达到更加正确诊断的目的。抗NDV单抗38、39对40个毒株或分离物在间接酶联免疫试验中呈明显的反应,并证实有特异性⁽⁴³⁾。这些单抗有希望用于诊断和流行病学调查。在猫白血病毒(FeLV)感染时,该病毒蛋白(FeLV—P²⁷)大量存在于猫血中,是检测FeLV感染的一种良好的标志。Lutz等(1983)利用单抗确定了FeLV粒子表面的3个抗原区,用酶联免疫试验和免疫沉淀试验证实了单抗MC—1、MC—2和MC—3对FeLV有特异性,证实了FeLV—P²⁷是种特异性抗原决定簇,还证实了用这些单抗作酶联免疫试验是检测猫血中FeLV—P²⁷的一种敏感方法。抗哺乳动物腺病毒六角体蛋白的单抗2HX—2具有群特异性,在免疫沉淀试验、间接免疫荧光试验和放射免疫测定中,证明2HX—2能同人及猴、犬、猪、鼠和牛等哺乳动物的腺病毒呈特异性反应,但不同禽腺病毒反应,因此,可用于哺乳动物腺病毒临床标本的诊断⁽⁸⁾。Lee和刘秀凡等(1983)建立了抗马立克病瘤有关表面抗原(MATSA)的单抗RPH—6。这个单抗在间接免疫荧光试验中,能特异地同含有MATSA的马立克淋巴瘤细胞反应,与常规的兔抗MATSA血清相比有较高的结合率,特别是对野毒引起的淋巴瘤反应更为明显。单抗RPH—6不同禽白血病毒及网状内皮病毒引起的淋巴瘤反应。这个单抗有希望用于马立克病的诊断。抗犬心虫单抗J4和J10合并应用于ELISA系统,可以检测25ng以下的犬心虫抗原,并具有明显的特异性⁽⁴⁷⁾。

四、有关病原方面的研究现状

劳斯肉瘤病毒 (RSV) 对宿主细胞的转化 (成为肿瘤细胞) 必须有该病毒src 基因的表达。RSVsrc基因的产物pp60^{src}是一种蛋白激酶, 能催化底物肽链上酪氨酸的磷酸化作用。这一作用被认为是RSV引起肿瘤形成的关键环节, 在细胞转化中起着决定性的作用。因而, 可以认为RSVpp60^{src}是研究劳斯肉瘤病毒肿瘤形成机理的靶细胞蛋白, 也是研究反转录病毒致癌机理的理想系统。多年来, 在RSV形成肿瘤的研究中, 均利用带瘤的兔血清或小鼠血清。但由于这些血清是一类含有抗RSV多种抗原决定簇的混合抗体, 对进一步研究RSVpp60^{src}的结构和功能受到了限制。近几年来, 已开始利用基因重组技术通过大肠杆菌合成RSVpp60^{src}, 经纯化后, 用作抗原免疫小鼠, 再用小鼠脾细胞与骨髓瘤细胞融合, 制备单抗。Parson等 (1983) 利用此法成功地研制了能识别RSV感染的鸡胚细胞转化蛋白的单抗; Lipsich等 (1983) 用同样的方法建立了抗RSVpp60^{src}的13个单抗。无疑, 这些单抗的建立, 为研究RSVpp60^{src}的结构和功能以及研究反转录病毒引起肿瘤形成的转化机理将是非常有价值的。此外, 抗禽疟原虫配子表面抗原决定簇的单抗, 在无活性补体存在时, 可阻断疟原虫配子传给蚊子, 阻止两性细胞受精⁽¹⁰⁾。单抗还可用于病毒遗传变异的研究。Laion等 (1983) 用一组抗狂犬病病毒CVS-11毒株糖蛋白的单抗在体外分离变异毒株, 发现这种病毒的变异有很高的频率 (10^{-4} — 10^{-5})。

五、单抗在病原方面的研究展望

单抗可识别病原微生物的种、型及亚型之间的抗原差异, 这已被一些研究所证实^(2, 6, 25, 28, 43, 44)。由于它具有识别单一抗原决定簇的特点, 优于常规法制备的分型血清。今后必将研制出更好的单抗分型血清, 把某些病原分为若干单抗原型。在诊断方面, 也将制备出有高度特异性并能代表“种”内致病的型和亚型的单抗诊断液, 包括各种标记抗体在内。一些病原微生物的生理功能及致病机理的研究, 也同样会随着单抗技术的普遍应用而逐步深入。在亚单位疫苗的研究方面, 已用物理化学方法或基因重组技术开展了一些研究工作^(11, 12, 36, 37, 51, 54)。下面以鸡瘟病毒 (FPV) 为例提出用单抗技术和基因重组技术相结合制备病毒亚单位疫苗可能发展的简略程序: (1) 利用单抗识别病毒中和抗原决定簇 (HA)。(2) 用限制性内切酶 (HindIII) 切割病毒中和抗原的基因片段, 并部分纯化。(3) 将切割的病毒基因片段插入已用同种酶切割的细菌质粒 (pWT121) 的DNA上, 并用DNA连接酶把病毒和质粒的DNA在 HindIII 切割位点 (A, AGCTT) 连接起来, 组成pWT121/FPV411 (R) 杂合DNA分子 (这个杂合物含有pWT121的色氨酸操纵基因和带有7个氨基酸密码的结构基因E, 以及FPV的HA基因, 其产物为589个氨基酸组成的肽链, 分子量为69,000)。(4) 转化大肠埃希氏菌 (K12HB101)。(5) 培养并利用选择标记挑选出已被转化的菌落 (pWT121

含有Apr (抗氨基青霉素) 和Tc^r (抗四环素) 基因) 可作选择标记, 能选出已经转化的菌落。(6) 扩大培养已转化的细菌, 生产病毒中和抗原 (pWT121色氨酸操纵子的阻遏物是色氨酸, 每0.1ml培养液含5 μg色氨酸时, 能达最大抑制; 它的诱导物是β-吡啶丙烯酸, 每0.1ml培养液中含4—8 μg时, 能引起最大的诱导作用, 此时HA的含量比抑制时的水平提高120倍)。(7) 溶解菌体, 利用特异性单抗作亲和层析, 提纯病毒中和抗原。(8) 把病毒中和抗原制成胶态分子团。(9) 加佐剂制成病毒亚单位疫苗。

六、单抗在哺乳动物精子表面抗原方面的研究现状与展望

很多研究已经证明, 哺乳动物的精子在正常情况下是单倍体, 性别基因是X或Y。Y基因在雄性体细胞和精子膜上的表达是H—Y抗原 (Histocompatibility Y抗原) (4', 9', 15', 38', 40')。了解哺乳动物精子表面的抗原分子结构, 特别是对H—Y抗原的研究, 对于认识精子受精过程及其机理以及控制后代性别均有着特殊重要的意义。单克隆抗体问世后, 科学家们很快就把这种能识别单个抗原决定簇的技术运用于哺乳动物精子表面抗原的研究 (9', 13', 35', 40')。在用田鼠精子免疫雌性Balb/C小鼠, 再用免疫小鼠的脾细胞同骨髓瘤细胞株P3X63Ag-8融合的杂交瘤试验中, Moors等 (1984) 获得了7个能分泌抗体的杂交瘤。用间接免疫荧光测定, 其中的5个单抗能与田鼠精子表面不同部位的抗原结合。Schmell等 (1982) 利用单抗对大鼠精子表面抗原进行了分析研究。Crichton等 (1983) 用C57BL/6J (B6) 雄性小鼠精子免疫同系母鼠, 再取其脾细胞同骨髓瘤细胞株P3—NS/1—Ag—8融合, 获得了3个在放射免疫测定试验中能识别免疫原的单抗。Bechtol等 (1979) 曾作过与此类似的研究。上述这些研究, 目前均未得到抗H—Y的单抗。

近年来用流动活细胞微荧光测定法分析了公牛、公猪、公羊和公兔的X精子和Y精子DNA的含量及两类精子的比例 (14', 20')。发现这些动物明显地存在着两类不同的精子, 而小公鸡的精子则是同一类型的 (同质精子)。Koo等 (1973) 用C57BL/6品系的雄鼠皮肤先后两次移植给同系雌鼠。在第二次皮肤移植被排斥后的7—21天, 从受体雌鼠得到抗H—Y血清。另外, 分别制备兔抗鼠IgG和兔抗烟草花叶病毒 (TMV) 的杂交抗体, 并以TMV为标记物作梯度离心。在离心过程中通过杂交抗体的一个“臂”与抗血清的Ig结合, 另一个“臂”与TMV结合, 最终把TMV带到H—Y抗原存在的部位。然后用电镜检查沉于管底的精子表面所吸附的烟草花叶病毒。他的实验结果是, 有20—40%的精子没有标记上TMV或者TMV的数量少于对照水平 (对照组的精子不吸附病毒或少于20个病毒); 20—40%的精子标记了20—60个TMV; 20—30%的精子标记了60—200个TMV。可以这样认定, 与对照组结果相同的20—40%的精子是X精子, 吸附病毒在60—200个的20—30%的精子是Y精子。他的实验初步证明了H—Y抗原存在精子顶体部位置。

生物膜的成分及其功能是受基因控制的 (1), 生物细胞表面成分的差异是细胞分化

的结果⁽⁵⁷⁾,受Y基因控制的精子表面的H—Y抗原,就是Y精子表面特有的标志。可以预料,今后完全有可能利用单抗技术把两类性质不同的精子分开。为此,作者提出关于H—Y抗原在精子表面的存在部位、精子表面抗原的复杂性以及与受精机理有关的精子表面结构等问题的看法。

1.根据Koo, C.G等1973年利用杂交抗体所作的梯度离心试验,可以认为H—Y抗原存在精子顶体部的质膜表面。

2.由于“血液睾丸”屏障⁽³⁾,精子表面所有的抗原对同系母鼠均有抗原性,对雄鼠自身也有抗原性(H—Y抗原例外)。这大概就是Bechtol和Crichton在用同系小鼠的精子免疫母鼠的单抗试验中,没有轻易获得抗H—Y单抗的原因。由于H—Y抗原是一种“弱”的移植抗原⁽⁴⁹⁾,在用精子作抗原要获得对H—Y的单抗,机率是小的。假如用雄性小鼠的皮肤移植给同系母鼠或者把雄性小鼠的脾、肾细胞(有H—Y抗原)给同系母鼠免疫,可能比较容易得到抗H—Y单克隆抗体。

3.精子顶体部质膜表面可能有“种特异性受体”组,它与同种卵子透明带表面的“种特异性受体”组成互补结构。异种动物的精子不能进入完整的卵细胞,这大概是生物种为繁衍后代的一种巧妙的生物学特性。不同种类动物精子顶体中酶的种类以及卵子透明带的化学成分基本上是相同的^(58) 60),如果只用酶来解释受精机理,就无法说清异种动物的精子和卵子一般不能受精的事实;而受体具有严格的种属特异性,能准确地进行生物学选择。

4.卵子表面为数众多的“种特异性受体”组,可能有一种连锁机构,通过某种机制能同时启闭。在正常情况下,卵子只允许1个精子进入,多精子受精通常为1—2%⁽⁶⁰⁾。精子在母体子宫内向输卵管一端前进,这本身就是一种生物学选择。活力最强的精子跑在最前面,得到受精的机会最多。可以设想,卵子外膜必须有一种严密的机构和敏捷的反应,既能选择接受同“种”精子,又必须在第一个精子到达透明带之后,立即拒绝接受第二个到达的精子。可以认为,多精子受精的情况只有在两个或两个以上的精子同时到达卵子透明带时,才有可能发生。这种机率当然是很低的。

精子表面H—Y抗原及其他抗原的分析,有赖于单抗技术的应用。很可能,受精过程的研究也要依靠单克隆抗体来解决某些理论上的问题。

七、有关淋巴细胞等方面的研究现状与展望

在T淋巴细胞和免疫球蛋白方面,已建立了抗牛淋巴细胞表面抗原⁽⁴⁰⁾、抗犬外周淋巴细胞^(22) 23)、抗鲤鱼胸腺及其胸外周血淋巴细胞⁽⁴⁵⁾、抗马IgM⁽³³⁾、抗牛IgM⁽⁵²⁾、抗牛IgG2a^(52) 53)以及抗鲤鱼血清Ig⁽⁴⁵⁾等的单克隆抗体。上海细胞生物研究所葛锡锐等已建立了抗北京鸭红细胞⁽⁵²⁾等单克隆抗体。

这些单抗对淋巴细胞的发生、发展、分布和功能的深入研究,将是有益的。在兽医应用方面,最明显的例子是关于免疫缺陷病的研究。在新生幼畜或雏禽的某些不明原

因,又无法治疗的疾病,或者可以查明直接原因(如细菌反复感染),但终归死亡的疾病,可能与某种类型或亚类的T、B淋巴细胞,或某类免疫球蛋白、某种补体成分或某种类型的吞噬细胞等缺陷有关。单抗则是这些细胞和活性物质细致分类的最好手段。可以预料,抗各种畜禽淋巴细胞、Ig、补体、还可能包括吞噬细胞在内的类和亚类的单抗将不断建立起来,并将在免疫缺陷病的研究中发挥积极的作用。另外,研究抗血型因子的单抗可望用于畜禽品系调查及用于遗传育种的研究。

参 考 文 献

- (1) Adelberg, E.A., et al., in *Membrane Physiology*, by T.E. Andredi, et al., 1980, 357—366.
- (2) Appleton, J.A., et al., *Virology*, 1983, Vol.124, 268—269.
- (3) Bechtol, K.B., et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1979, Vol.76, No 1, 363—367.
- (4) Beulter, B., et al., *Cell*, 1978, Vol.13, 509—513.
- (5) Brochi, E., et al., *Vet. Bull*, 1984, Vol.54, No 1 23 (89).
- (6) Bruch, C., et al., *Virology*, 1982, Vol.122, 342—352.
- (7) Bruch, C., et al., *Virology*, 1982, Vol.122, 353—362.
- (8) Cepko, C.L., et al., *J. Clin. Microbiol*, 1983, Vol.17, No 2., 360—364.
- (9) Crichton, D.N., et al., *Reprod. Fert.*, 1983, Vol.68, 497—505.
- (10) Danforth, H.D., et al., *Am. J. Vet. Res.* 1983, Vol.44, No 9, 1722—1727.
- (11) Emtage, J.S., et al., In *New Developments with Human and Veterinary Vaccine*, 1980, 367—375. Ed by A. Wizrahi, et al., New York Alan R. Liss.
- (12) Emtage, J.S., et al., *Nature*, Vol.283, 171—174.
- (13) Feuchter, F.A., et al., *Biol. Reprod.*, 1981, Vol.24, 1099—1110.
- (14) Garner, D.L., et al., *Biol. Reprod.*, 1983, Vol.28, 312—321.
- (15) Goldberg, E.H., et al., 1971, Vol.232, 478—480.
- (16) Greenberg, H., et al., *Infect. Immun.*, 1983, Vol.39, No 1, 91—99.
- (17) Ikuta, K., et al., *Vet. Bull.*, 1983, 53, No. 7, 686 (4861).
- (18) Iorio, R.M., et al., *J. Virol.*, 1983, Vol.48., No 2, 440—450.
- (19) Kaushal, D.C., et al., *J. Immunol.*, 1983, Vol. 131, No 5, 2557—2568.
- (20) Keeler, K.D., et al., *J. Reprod. Fert.*, 1983, Vol.68, 205—212.
- (21) Koo, G.C., et al., *Pro. Nat. Acad. Sci.*, 1973, Vol.70, No 5, 1502—1505.

- (22) Krawiec, D.R.et al., *Am.J.Vet. Res.*, 1984, Vol.45, № 3, 491—498.
- (23) Krawiec, D.R.et al., *Am.J.Vet. Res.*, 1984, Vol.45, No 3, 499—505.
- (24) Laion, M.et al., *J.Gen. Virol.*, 1983, Vol.45, 64, 843—851. № 3, 499—505.
- (25) Lee, L.F., et al., *J.Immunol.*, 1983, Vol.130, №2, 1003—1005.
- (26) Lee, L.F., et al., *J.Immunol.*, 1983, Vol.130, № 2, 1006—1011.
- (27) Letchworth, G.J.et al., *Infect. Immun*, 1983, Vol.39, № 1, 208—212.
- (28) Letchworth, G.J.et al., *virology*, 1983, Vol.124, 300—307.
- (29) Lipsich, L.A.et al., *J.Virol.*, 1983, Vol.48, №2, 352—360.
- (30) Lutz, H.et al., *J.Immunol. Methods*, 1983, Vol.56, 209—220.
- (31) Mathews, J.H.et al., *J.Immunol.*, 1982, Vol.129, № 6, 2763—2767.
- (32) McCullough K.C.et al., *Vet.Bull.*, 1983, Vol.53, № 2, 163 (1039).
- (33) McGuare T.C.et al., *Am.J.Vet.Res.*, 1983, Vol.44, № 7, 1284—1288.
- (34) Meloen, R.H.et al., *J.Gen.Virol.*, 1983, Vol.64, 1193—1198.
- (35) Moore, H.D.M., et al., *J.Reprod. Fert.*, 1984, Vol.70, 175—183.
- (36) Morein, B.et al., *Nature*, 1978, Vol.276, 715—718.
- (37) Morein, B.et al., *J.Gen.Virol.*, 1983, Vol.64, 1557—1569.
- (38) Moruzzi, J.F., *J.Reprod. Fert.*, 1979, Vol.57, 319—323.
- (39) Parsons, S.T.et al., *J.Virol.*, 1983, Vol.45, № 3, 1190—1194.
- (40) Pinder, M.et al., *Immunology*, 1980, Vol.40, № 3, 36.
- (41) Roseto, A.et al., *J.Gen.Virol.*, 1983, Vol.64, 237—240.
- (42) Roseto, A.et al., *Vet. Bull*, 1983, Vol.53, № 2, 168 (1085) .
- (43) Russell, P.H.et al., *Arch. Virol.*, 1983, Vol.75, № 4, 243—253.
- (44) Sarean, P.et al., *Vet. Bull.*, 1983, Vol.53, № 8, 735 (5246) .
- (45) Secombes, C.J.et al., *Immunology*, 1983, Vol.48, 165—175.
- (46) Schmell, E.D., et al., *Ferot. Steril.*, 1982, Vol.37, № 2, 249—257.
- (47) Scott, A.L.et al., *Vet.Bull.*, 1983, Vol.59, № 8, 751 (5380) .
- (48) Sherman, D.M.et al., *Infect. Immun.*, 1983, Vol.42, № 2, 653—658.
- (49) Silvers, W.K.et al., *Science*, 1977, Vol. 195, 956—960.
- (50) Simons, F.et al., *Vet.Bull.*, 1984., Vol.54, № 1, 23 (90) .
- (51) Simons, K.et al., *In Developments with Human and Veterinary*

- Vaccines, 1980, 217—228. Ed by A. Mizrahi, et al., New York : Alan R. Liss.
- (52) Srikumaran, S. et al., J. Am. Vet. Res., 1982, Vol. 43, No. 1, 21—25.
- (53) Srikumaran, S. et al., J. Dairy Sci., 1980, Vol. 63, Suppl. 1, 123.
- (54) Tacon, W. et al., Molec. Gen. Genet., 1980, Vol. 177, 427—438.
- (55) Weis, J. et al., J. Virol., 1983, Vol. 45, No. 2, 859—863.
- (56) Wright, I. G. et al., Infect. Immun., 1983, Vol. 41, No. 1, 244—250.
- (57) Ambrose, E. J. 等著, 上海生物实验研究所译: 《细胞生物学》, 科学出版社, 1978, 99—102, 200。
- (58) E. S. E. 哈弗士主编, 许怀让等组编: 《农畜繁殖学》, 科学技术文献出版社重庆分社, 1982, 546—572。
- (59) 中国畜牧兽医学会译编: 《家畜繁殖科学技术进展》(第八届国际动物繁殖与人工授精会议论文集), 科学出版社, 1980, 42—45。
- (60) 西北农学院等译编: 《哺乳动物的卵子》(译丛), (全国第三期家畜繁殖学讲习班资料), 1981, 52—72, 165—218。
- (61) 童志忠等编: 《分子遗传学论文集》, 科学出版社, 1982, 191—214。
- (62) 葛锡锐等, 《实验生物学报》, 1981, 第14卷, No. 2, 213—215。