

# 广东生物工程研究

林剑 朱伟杰 罗进贤 姚汝华 黄自然 陈剑经 向军俭 编

GUANGDONG BIOENGINEERING  
RESEARCH

暨南大学出版社

# 广东生物工程研究

1991 1992 1993 1994 1995 1996 1997 1998 1999 2000 2001 2002 2003 2004 2005 2006 2007 2008 2009 2010 2011 2012 2013 2014 2015 2016 2017 2018 2019 2020 2021 2022 2023 2024 2025

广东省生物工程学会 广东省生物工程学会

广东省生物工程学会

广东省生物工程学会

# 广东生物工程研究

——广东省生物工程学会学术研讨会论文集

林 剑 朱伟杰 罗进贤 姚汝华 黄自然 陈剑经 向军俭 编

暨南大学出版社

粤新登字13号

# 广东生物工程研究

——广东省生物工程学会学术研讨会论文集

林 剑 朱伟杰 罗进贤 姚汝华 黄自然 陈剑经 向军俭 编

暨南大学出版社出版

(广州·石牌)

广东省新华书店经销

广东省五华县印刷厂印刷

开本: 787×1092 1/16 印张: 13.25 字数: 31万字

1995年6月第1版 1995年6月第1次印刷

印数1—1000册

ISBN 7-81029-403-2/Q·2

• 定价: 18.00元

# 前 言

生物工程是当前引人注目，对科学、社会和经济的发展产生了深刻影响的综合性新兴研究领域。为反映我省近年生物工程的研究成绩，交流国内外生物工程的进展，促进科技成果的推广应用，广东省生物工程学会于1995年6月在广州市召开广东生物工程学术研讨会，并在暨南大学出版社的大力支持下，编辑出版了《广东生物工程研究》一书。

本书汇集论文、综述和研究简报55篇，约31万字，内容涉及生物工程在理、工、农、医等方面的基础研究与应用开发，其中多项研究是国家、省、军队或中外合作项目的工作，不少内容为国内首次报道，不仅有较高的学术水平或临床指导意义，而且有较好的推广价值。本书从一个侧面部份地反映了我省近年在生物工程领域研究与应用的某些进展，有助于了解我省该领域的学术动态。

由于编者水平所限，书中可能存在某些不妥之处，敬请读者、同仁指正。

广东省生物工程学会

1995年6月

# 目 录

## · 研究报告 ·

- 共固定根霉和酵母混合发酵生产米酒的研究.....姚汝华等 ( 1 )
- 鼻咽部癌前阶段与鼻咽癌中EBV—LMP和核抗原亚型的研究.....陈剑经等 ( 7 )
- 鼻咽癌活化癌基因c—myc扩增和c—Ha—ras点突变的研究.....陈剑经等 ( 13 )
- 抗精卵结合的生育调节工程疫苗研究中抗原多样性的比较探讨.....刘学高等 ( 19 )
- 金黄地鼠卵冷冻保存的初步研究.....朱伟杰等 ( 26 )
- 重组牛碱性成纤维细胞生长因子 ( rbFGF ) 的免疫原性研究.....向军俭等 ( 30 )
- 分泌抗碱性成纤维细胞生长因子单克隆抗体细胞株的建立.....向军俭等 ( 34 )
- 电场介导杂交瘤细胞株NAN123DNA转移入小鼠骨髓瘤细胞的研究.....罗宏邠等 ( 37 )
- 药用黄花蒿培养细胞生长的研究.....李弘剑等 ( 44 )
- 添加剂对玫瑰茄细胞生长及花黄素产生的影响.....张玉焜等 ( 49 )
- 多效唑在香蕉试管苗生产中应用的研究.....王正询等 ( 53 )
- 不同培养料栽培草菇试验.....黄文芳 ( 56 )
- 用超临界二氧化碳提取含 $\gamma$ —亚麻酸的真菌油脂.....吴水清等 ( 60 )
- 固定化梨头霉菌在有机相中催化生成皮质醇的研究.....王 俊等 ( 64 )
- 胆红素锌配合物的合成和表征.....郑文杰等 ( 70 )
- 氨苄青霉素注射液中热原检查方法的探讨.....吴招娣等 ( 78 )
- 天然 $\beta$ —胡萝卜素的毒理学研究.....李瑾鹏等 ( 83 )
- 以大蒜素混悬液和云南白药酊剂行兔肝动脉栓塞的实验研究.....苑家骏 ( 86 )
- 草菇原生质体低温驯化再生菌株及其特性的研究.....丁光生等 ( 90 )
- 香菇多糖研究.....任国梅等 ( 97 )
- 松毛虫病毒制剂中多角体产量的研究.....许再福等 ( 100 )
- 非阻塞性输精管滤过装置节育术后抗精子抗体检测.....欧汝强等 ( 102 )

一种快速高收率分离纯净猪卵透明带的方法探讨 .....	姜彦嘉等 (106)
酶免法检测妊娠特异性 $\beta$ 糖蛋白SP1 .....	吴 革等 (109)
PCR方法在临床HPV检测中的应用 .....	梁 田等 (112)
用心血管血流参数无损伤检测仪对妊高征心血管功能的检测 .....	黄以宁等 (115)
HPV11、16和18型重组质粒DNA的提纯与鉴定 .....	梁 田等 (119)
146对自发流产夫妇的染色体分析 .....	杨 卫等 (122)
杂交瘤细胞用不同佐剂诱导小鼠产生腹水的比较 .....	何美卿等 (124)
微波能对微生物的致死效应研究 .....	吴 晖等 (126)
墨兰的快速繁殖 .....	张志胜等 (130)

## · 综 述 ·

癌基因表达调控与细胞的癌变 .....	余焱林等 (133)
香蕉生物技术研究现状与今后的发展 .....	贺竹梅等 (138)
用猪卵透明带糖蛋白组分作免疫原发展生育调节疫苗的研究 .....	潘善培等 (144)
输卵管上皮细胞共培养系统在辅助生殖技术中的应用 .....	钟 瑜等 (150)
男性学进展的几个方面 .....	朱伟杰 (157)
抗精子抗体检测方法的应用与评价 .....	姜彦嘉等 (161)
略论发酵过程控制与发酵液流变学的关系 .....	周少奇等 (167)
微生物多不饱和脂肪酸的研究进展 .....	吴水清等 (173)
代谢工程 .....	卓肇文 (178)
木瓜蛋白酶的纯化和性质 .....	高雄辉 (181)

## · 研究简报 ·

重组牛碱性成纤维细胞生长因子大规模纯化工艺之探索 .....	林 剑等 (186)
牛碱性成纤维细胞生长因子cDNA序列测定 .....	李俊安等 (187)
小鼠表皮生长因子在枯草杆菌中的表达和分泌 .....	罗进贤等 (188)
大麦 $\alpha$ -淀粉酶及黑曲霉糖化酶在酿酒酵母中的表达和分泌 .....	李政海等 (189)

应用转基因小鼠分析抑癌基因阻遏癌基因激活 .....	陈汉源等 (190)
用巢式聚合酶链反应检测幽门螺杆菌 .....	马维芳等 (192)
利用伴性基因选育雄蚕品系的研究 .....	方菲芳等 (193)
亮氨酸脑啡肽基因的化学合成及其植物表达载体的构建 .....	徐增富等 (195)
抗褐稻虱的分子机理及其基因工程策略 .....	徐增富等 (197)
4种分子量PEG作为融合剂制备淋巴细胞杂交瘤融合率比较 .....	向军俭等 (199)
重组碱性成纤维细胞生长因子致豚鼠过敏性试验 .....	向军俭等 (200)
重组碱性成纤维细胞生长因子制剂的豚鼠和小白鼠安全性试验 .....	向军俭等 (201)
化学合成恶性杂合抗原基因表达产物免疫功能的研究 .....	陈仕荣等 (202)
化学合成人恶性疟杂合多肽抗原基因表达产物的分离纯化 .....	陈仕荣等 (203)



# 共固定根霉和酵母混合发酵 生产米酒的研究

姚汝华 吴慧清

(华南理工大学食品工程系, 广州510642)

共固定化技术是在混合发酵技术和固定化技术的基础上发展起来的一门新技术, 即将几种细胞同时包埋于同一载体中形成共固定化细胞系统(CO-immobilized cell system), 这种系统稳定, 可将几种不同功能的微生物协同作用, 混合细胞的固定化技术综合了混合发酵和固定化技术的优点, 与用遗传工程构建的细胞相比更有希望在短时间内应用于生产。

国内外对共固定化技术在酒精生产上的应用有一定的研究。Kurosawa等人将盛孢曲霉和发酵运动杆菌共固定化用于从淀粉产酒精研究<sup>[1]</sup>; 并且还进行过将盛孢曲霉与啤酒酵母共固定化用于从淀粉产酒精研究<sup>[2]</sup>, 国内杭州大学用共固定化酵母与黑曲霉技术直接由淀粉生产酒精<sup>[3]</sup>。有关共固定化技术生产小曲米酒的研究未见有报道。

小曲米酒是一种以大米为原料生产的饮料酒, 传统工艺复杂, 发酵周期长, 劳动强度大, 质量不稳定, 为了扩大米酒的产量, 缩短发酵周期, 节约原料和提高出酒率, 本研究在吸收小曲米酒传统工艺的的优点上, 通过实验探索采用共固定化根霉和酵母混合发酵生产小曲米酒的新方法。

本文讨论共固定化粒子的制备条件及发酵特性; 产酒工艺路线与半连续发酵产酒实验。

## 材料与amp;方法

### 一、菌种

德氏根霉3.5; 拉斯12号酵母(以上均为本所保存菌种); 生香酵母(四川泸州大曲酒酒饼分离得到)。

### 二、原料与试剂

粘米粉(中山产); 海藻酸钠(国产), 其它试剂均为实验级用品。

### 三、培养基

1. 根霉培养基(斜面)如土豆汁培养基。

2. 发酵培养基: 20%米粉; 2%豆粉; 0.025% $MgSO_4$ ; 0.05% $KH_2PO_4$ ; 2%接种

量; PH4.5; 30℃。

#### 四、固定化粒子制备方法

固定化根霉粒子: 用10ml生理盐水将1支在30℃斜面培养3天的德氏根霉孢子洗下, 制得9ml孢子悬浮液, 浓度为 $10^6 \sim 10^7$ 个/ml, 孢子悬浮液加入到90ml含海藻酸钠(2.5g)无菌溶胶中, 搅拌均匀之后, 用注射器滴入无菌的5%  $\text{CaCl}_2$ 溶液中, 制成4~5mm的球形颗粒, 置4℃备用。

共固定根霉和酵母粒子: 接种根霉孢子二孢子50ml 2% 米粉产酶培养基, 30℃振荡培养42h两种酵母分别在完全培养基(30℃)培养12h, 然后液体根霉与酵母( $R_{12}$ : 生香酵母=1:1)混匀, 倒入海藻酸钠溶液中(终浓度为2.5%), 搅拌均匀后用注射器注入5%  $\text{CaCl}_2$ 中制得4~5mm的球粒, 置4℃保存备用。

#### 五、产酒发酵

采用先部分糖化后边糖化边发酵工艺。即先采用固定化根霉发酵水解培养基, 再利用共固定根霉和酵母进行发酵产酒, 醪液经过滤即得米酒用于测定。

#### 六、糖化酶活力的测定<sup>[4]</sup>

#### 七、酒精含量的测定, 采用简量法<sup>[4]</sup>

#### 八、淀粉含量, 总糖, 还原糖和总酸总酯测定<sup>[4]</sup>

#### 九、成品白酒质量分析

采用气相色谱法 FFAP(20M)25M $\times$  $\phi$ 2.5石英毛细管, 气化温度240℃, 86℃恒温。

## 结果与讨论

### 一、影响固定化根霉水解淀粉的主要因素

#### 1. 糖化时间曲线及接种量的影响

分别用1.5g、45g固定化根霉孢子经150ml土豆汁在30℃, 120rpm振荡, 增殖1天后接入20%米粉发酵培养基, 30℃、120rpm振荡培养, 测量还原糖生成与时间的关系(表1), 由表1可见, 接种量以1.0%为较好, 在2天时, 还原糖的产量最高, 达10.75g/100ml。

#### 2. 温度对还原糖生成的影响

在500ml三角瓶中, 装入20%米粉产酶培养基150ml, 直接接入2%的固定化孢子, 分别于30℃、35℃、37℃通风糖化2天, 结果如表2所示, 由表2可知, 固定化根霉的糖化温度以35℃为最好。

### 二、影响共固定化粒子产酒的研究

#### 1. 共固定化粒子制备条件

对于米酒生产, 不同于酒精生产, 要求生香又产酒精, 因此生产上将生香酵母和产酒酵母进行混合发酵有利于提高米酒的品位, 根据已有数据<sup>[5]</sup>, 本研究选用酿酒酵母与生香酵母的比例为1:1(体积比)。

表1

不同接种量对还原糖生成的影响

还原糖 时间hr	接种量	1.0%	2.0%	3.0%
		24	6.65	7.05
36		9.10	9.20	8.95
48		10.75	10.60	10.60
60		8.20	8.20	7.40

表2

温度对还原糖生成的影响

温 度	30°C	35°C	37°C
还原糖g/100ml	5.90	7.95	6.98
总 糖g/100ml	7.40	8.40	8.10
糖化率%	37.7	50.8	44.6

表3

液曲根霉与酵母比例产酒的影响

R : Y (U : Y)	4 : 1	3 : 1	2 : 1	1 : 1	1 : 2	1 : 3	1 : 4
产酒 (%) (U/Y)	3.02	3.0	2.3	2.1	2.0	1.9	1.67

在共固定化粒子中，根霉与酵母共生菌，根霉将淀粉转化的葡萄糖为酵母所利用，在没有外加葡萄糖情况下，酵母只能利用根霉转化的葡萄糖进行发酵，葡萄糖为一种限制性营养物，因此，选择根霉和酵母的比例要恰当，根据不同比例制成共固定化粒子 3g，接入 5% 米粉发酵培养基中，32°C 静置发酵 2 天，结果如表 3。由表 3 可知，根霉与酵母共固定时，其体积比以 3~4 : 1 为好，而当其比例超过 3 时，产酒增加较少，故选择比例 3 : 1 为好。

### 2. 共固定化粒子的接种量对产酒的影响

不同接种量的共固定化粒子接入 20% 米粉发酵培养基中，35°C 静置发酵，用简易法测酒。结果如表 4。试验结果说明，2% 接种量，无论从发酵速度还是从产酒量来说，都比较好。

### 3. 共固定化粒子的增殖及产酒时间曲线

表4

不同接种量对共固定化粒子产酒的影响

时间	产酒 v/v	接种量		
		2%	5%	10%
24hr		2.67	3.7	1.98
48hr		5.1	3.75	4.32
54.5hr		5.95	5.28	4.4
72hr		6.2	5.5	4.6
78.5hr		6.55	6.4	5.8
残总糖		1.88	2.3	1.56
残还原糖		0.37	0.24	0.25

将按上述条件制备共固定化粒子3g, 经2%米粉产酶培养基(150ml)中, 30℃、120rpm摇床增殖1天之后, 接入20%米粉发酵培养基, 35℃进行静置发酵和35℃、120rpm振荡培养, 同时不经增殖的共固定化粒子3g接入相同条件下的发酵培养基中做对照, 结果如图1。由图1可见, 经增殖后, 产酒速度较快, 增殖后静置培养情况在84—94h之间, 产酒最高, 达5.6% (v/v), 增殖后通风培养产酒更快, 但最终结果较低, 且考虑动力缘故, 选用增殖后静置发酵的方法。

### 三、先部分糖化后边糖化边发酵工艺产酒

通过许多对共固定化粒子发酵产酒的试验, 发现产酒都不高, 发酵周期长, 究其原因, 是糖化力不高, 淀粉转化为糖的速率慢, 为了缩短发酵周期, 提高出酒率, 则对先部分糖化后边糖化边发酵的工艺进行研究。

固定化根霉1.5g接入150ml土豆汁, 30℃、120rpm振荡培养1天, 接入150ml20%米粉发酵培养基中35℃, 120rpm振荡培养2天, 过滤后的糖化液用3g共固定化粒子, 经2%米粉产酶培养基增殖1天后的固定化粒子发酵, 用简易法测量(图2)。图2表明, 采用上述工艺发酵, 产酒能提高, 发酵周期缩短, 糖化2天, 发酵2天, 产酒达8.0% (v/v), 出酒率达146.8%, 淀粉转化率达79%。

### 四、半连续试验

#### 1. 固定化根霉的使用寿命

本研究对固定化根霉的半连续发酵进行了试验, 经验证, 固定化根霉在使用6批次之后, 仍具有一定的糖化力。

#### 2. 共固定化粒子的使用寿命

共固定化粒子中糖化酶的稳定性是发酵能否长期进行下去的首要因素, 对共固定化粒

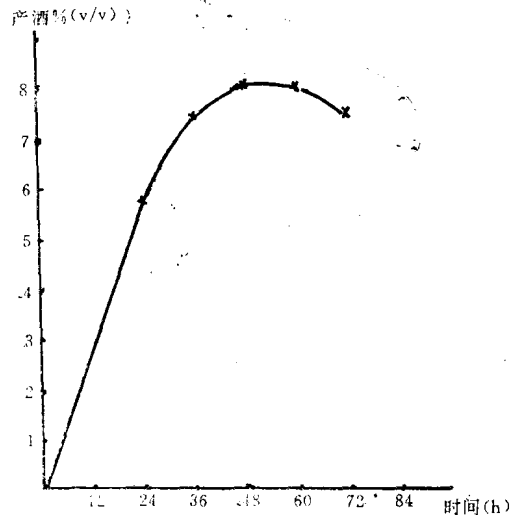


图1 共固定化粒子A的产酒时间曲线

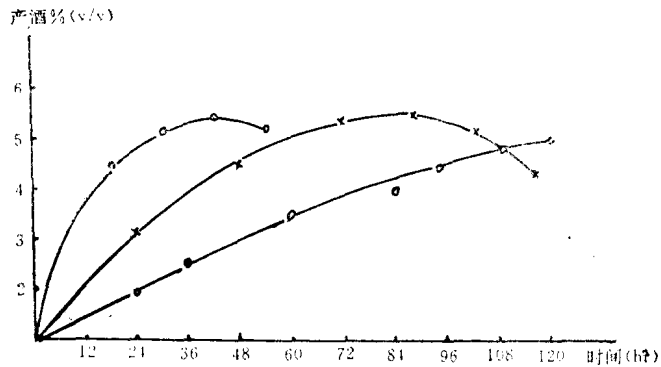


图2 共固定化粒子增殖对产酒的影响

—x—增殖静发酵    —o—未增殖静发酵    —●—增殖摇床通风发酵

子进行4批重复使用，酶的寿命为10天，半衰期为8天左右。

综上所述，采用本研究工艺所制备的酒样经气相色谱检测和感观评价，结果为：酒度 $8^{\circ}$ ；总酸：0.004586；总酯0.017898；出酒率：146.9%；淀粉转化率：79%；残总糖 $2.3\text{g}/100\text{ml}$ ；残还原糖： $0.68\text{g}/100\text{ml}$ ，产品为典型米香味。以上数据与广东优质米酒相比，本工艺路线可行，具有周期短，产酒高的特点。

### 参 考 文 献

1. Hideo Tanaka, Hiroshi Kurosawa et al, Ethanol Production from starch by a Coimmobilized Mixed Culture System of *Aspergi Uus awamori* and *Zymomonax mobilis*. *Biotech. & Bioeng* 1986, 28: 1761
2. Hiroshi Kurosawa, et al. Ethanol Production from Starch by a Coimmobilized Mixed Culture System of *Aspergi Uus awamori* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotech. & Bioeng.* 1989, 33: 716
3. 陈佩华等. 共固定化酵母和黑曲酶的淀粉酒精发酵. *工业微生物* 1989, 20(6): 8
4. 华南工学院等四校编. *工业发酵分析*. 轻工业出版社 1983
5. 赵建华等. 产酯酵母培养条件探索. *酿酒* 1983, 2: 32

# 鼻咽部癌前阶段与鼻咽癌中EBV LMP 和核抗原亚型的研究\*

陈剑经 詹德进 黄平 张锋 易青 谷丽 黄腾波

(中山医科大学肿瘤研究所, 广州510060)

国际上近年对EBV基因片段及其表达产物—潜伏性膜蛋白(LMP)和核抗原(EBNA)的亚型的研究深入开展, 对于LMP与EBNA在细胞转化过程中的动态和作用很受关注<sup>[1-9]</sup>。从鼻咽癌变角度来说, 它们是否导致鼻咽上皮细胞癌变的转化片段或转化蛋白? 这无疑是当前EBV与HPC相关研究中重点之一。

我们考虑探测鼻咽癌细胞中的EBNA、LMP及其编码基因片段固然重要, 但是, 它们的存在并未能除外在病因学上EBV只是“过客”的可能性。因此, 有必要探测它们在癌前阶段的存在与活性及其与癌发生的内在联系。本文着重建立和应用核酸分子原位杂交(RNA/mRNA)测定EBV的LMP编码基因[EBV-DNA(LMP)]活性, 和电脑程序控制的显微分光光度定量法去测定EBNA各亚型的存在和定位, 对EBV在鼻咽癌发生上的作用进行探讨。

## 材料与方 法

从中山医科大学肿瘤医院门诊及居民现场采集鼻咽癌、鼻咽不典型增生和慢性炎症的粘膜组织, 均经病理或细胞学检查。

基因片段克隆的载体质粒pGEM扩增、EBV-DNA(LMP)的分离纯化、<sup>32</sup>S/<sup>32</sup>P-Riboprobe制备(SP60/17 RNA多聚酶诱导法)、Southern印迹和亚细胞原位分子杂交(RNA/mRNA)等技术系列采用我室或我室与协作单位共同建立的方法<sup>[4]</sup>。

Western印迹采用SDS—不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳系统, 印渍电源用高电场、大电流脉冲转移系统。

EBNAs用Raji细胞在上述电泳系统和印迹转移到NC膜后, 与高滴度人EBNA抗体血清(>1:1280)反应, 获得各EBNA亚型不同Kd迁移带条作标准, 参照标准EBNA免疫荧光条带迁移位置以同样方法取得大量不同迁移区域的各EBNA亚型, 以高EBNA抗体滴

\* 本文为国家科委攻关项目并由美国国立癌症研究所基金资助

度的人血清与各EBNA亚型的印迹NC膜分别地作免疫结合反应,此免疫反应物以洗脱液洗脱出合各EBNA抗体的血清,最后用低温真空干燥机浓缩,储备待用。

用ACIF法以上述备用的各EBNA亚型血清作为第一抗体,在癌、不典型增生或慢性炎症的鼻咽粘膜组织低温冷冻切片作免疫荧光反应,显示抗原的定位荧光,各种待测定的样本用本室建立的电脑程序控制的显微荧光分光定量测定法进行检测、储存和统计学片处理。

## 结果与讨论

当细胞感染了EBV后,细胞表现产病毒状态(如B95-8、P3HR-1细胞株携带EBV颗粒),也可以呈现携带EBV基因而无EBV颗粒的潜伏状态(Raji细胞株为代表)。当感染EBV后,很早就出现EBNA并维持较长周期。产病毒或顿挫性感染,还加上VCA和EA抗原的表达。近年,又发现一种呈斑块状定位于细胞膜、出现在潜伏周期的蛋白抗原,即LMP。Feunenald分析潜伏感染细胞内有三种病毒多聚腺嘌呤RNA,其中一种可编码膜性蛋白,Kann在EBV转化的类淋巴母细胞内所分析到的三种主要的mRNA当中,含量最高的一种是由EBV基因组中EcoRI-Dhet片段所转录,此种mRNA转译膜蛋白,后者分子量为63000(63kd, P63)。被步认为LMP对淋巴细胞、纤维母细胞的转化起着重要作用。由于P3HR-1细胞所产病毒的BamHI-HY片段缺失,该EBV失去转化力,从而推断I所编码的EBNA-2是转化蛋白<sup>[7]</sup>;用BamHI-Hy转染Rat-1细胞,通过裸鼠成瘤证明可诱发恶性肿瘤<sup>[9]</sup>,提示EBNA2和5与细胞转化有关。

为了弄清EBNA亚型与LKP在鼻咽癌发生上所具有转化作用,首先分析癌组织内的LMP以及EBNA的存在状态,进而重点分析癌前阶段LMP基因的转录活性及其表达产物。

1. 我们曾在高发区观察到鼻咽粘膜上皮不典型(或称异型)增生,是一组癌前病变<sup>[11]</sup>。经过三年的追踪观察,其中有6.6%病人已发展为原位癌或浸润癌。病理组织学上的不典型增生(或异型增生)是鼻咽癌前阶段的重要指征。这种具有很大癌变机遇的上皮细胞病变,据本实验结果,它不仅具有EBV-Xho-1(LMP)(见表1),还具有转系活性(表1)。

表1

鼻咽癌、不典型增生和慢性炎各种粘膜组织DNA  
与32P-EBV DNA(LMD-XhoI)探针杂交信号。

	例数	分子杂交信号		分子杂交阴性
		单一信号带条	多态性信号	
鼻咽癌	20	17	2	1
不典型增生	7	1	6	0
慢性炎	16	0	4	12
Burkitt 瘤	4	4	0	0
合 计	47	22	12	13

• Southern印迹杂交



以上实验结果表明：大多数不典型增生（异型增生）的组织中，LMP基因片段的杂交信号呈多态性分布（6例/7例），杂交带条主要分布在3—6kb和9—12kb两个区段内。此种核酸分子杂交的强烈信号，表示细胞内EBV—DNA（LMP）基因拷贝的激增，反映EBV—DNA呈高度复制状态。检测结果还表明：慢性炎组织中多数不存在编码LMP基因片段；鼻咽癌则呈单一带条的杂交信号为主，杂交带条位于9~13kb区段之间，表示鼻咽癌细胞DNA携带EBV—DNA（LMP）基因片段。

应用亚细胞结构原位核酸分子杂交技术，选用NTB2型KODAK核子乳胶，经2—4周时间的自动放射显影，在细胞质中显出清晰的银粒，呈黑色呈颗粒。此种杂交信号是由35S—EBV—DNA（LXP/Xho）探测的分子杂交（RNA/mRNA）的结果，图象明确地显示EBV—DNA（LMP）有转录活性。在原位分子杂交探测中，7例NPC中6例阳性，4例异型增生细胞中3例阳性，而5例慢性炎上皮细胞内未见典型的杂交信号。

引起兴趣的是，中国人NPC与欧美白种人偶发的NPC不同，呈LMP/Xho1位点缺失状态，此种基因重排或丢失现象，是否在恶性转化过程中丢失，抑或与免疫监视机制丧失有关，尚待探讨。

2. 建立高电场大电流的SDS—PAGE—Western印迹术，进一步分离纯化血清中的EBNA亚型的抗体，从而测知NPC细胞内以单一的EBNA—1表达为主，而不典型增生呈EBNA5，3，2和1为主的多样性表达状态（见表2）从这种动态表现提示和支持EBNA—2，3和5可能与启动转化有关，EBNA—1可能与维持转化有关。

表2 鼻咽癌、不典型增生上皮和慢性炎上皮细胞中EBNA亚型的表达

	例数	EBNAs (+) *			
		EBXA—1	EBXA—2	EBXA—3	EBXA—5
NPC	9	7	0	0	0
不典型增生	3	3	2	3	3
•• 上皮细胞	5	1	0	0	0

- \* 显微分光测定ACIF荧光超过本底光度为阳性（ $P < 0.01$ ）
- 指鼻咽粘膜慢性炎之披复上皮

经电脑运算，现场居民鼻咽上皮细胞具有EBNA荧光分光单位高值者，经半年至一年以上的时问，受检者发展为NPC的有3例，半年以内诊断为NPC者2例，共5例，其余100例在4年内没有发生NPC（见表3）。5例NPC均经病理组织学诊断确诊。前瞻鼻咽细胞涂片中，5例最后演变为NPC者在前瞻检查时鼻咽上皮细胞内的EBNA定量已超过100FS单位（125.32—139.87FS），而前瞻4年内不发生NPC者，其鼻咽上皮细胞内EBNA为7.01—83.85FS。由此可见，前瞻检查或常规检查时，鼻咽涂片中上皮细胞的EBNA定量超过