

ATP hydrolysis but not affects the ATP synthesis at low concentration ($< 1 \text{ mmol/L}$). The results indicate that 0.1 mmol/L azide apparently activates ATP synthesis of F_1F_0 -ATPase. The activation is negatively related to the concentration of P_i in the reaction system. When the concentration of P_i is kept at 0.1 mmol/L , with the increase of azide concentration, the apparent activation degree of ATP synthesis by azide is changed. When the concentrations of azide and P_i are equal, the apparent activation by azide is the biggest. The apparent inhibition of ATP synthesis by azide would not begin until the concentration of azide reaches near 0.5 mmol/L . After the concentration of azide is higher than 1 mmol/L , the uncoupling of F_1F_0 -ATPase appears. The mechanism of the roles of azide and P_i is discussed.

Key words F_1F_0 -ATPase, ATP synthesis, azide, P_i

* This work is supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (39670183) and National Laboratory of Protein Engineering and Plant Genetic Engineering Foundation, Peking University.

** Corresponding author. Tel: 86-10-64888525, E-mail: lsg@sun5.ibp.ac.cn

Received: November 23, 2000 Accepted: January 20, 2001

转基因植物疫苗免疫原基因表达研究概述

程丽琴 周继勇

(浙江大学动物预防医学研究所, 杭州 310029)

近年来,随着基因工程、蛋白质工程以及免疫学理论与技术的迅速发展,以开发新型高效疫苗为目标的新的研究领域异常活跃,基因工程亚单位疫苗、基因缺失疫苗、重组病毒活载体疫苗、核酸疫苗各展风姿,但这些系统存在设备复杂,成本高,免疫原性较差和外源微生物污染的缺陷。为克服上述缺陷,进入20世纪90年代,以植物为生物反应器的疫苗研究策略迅速发展,短短几年以植物为生物反应器的可食性疫苗取得了可喜的进展,这些进展也开辟了植物生物技术革命的新天地。

1 转基因植物疫苗研究原理和策略

利用转基因植物生产疫苗,是将抗原基因导入植物,使其在植物中表达,人或动物摄取该植物或其中的抗原蛋白质,就可产生对某抗原的免疫应答。转基因植物生产口服疫苗的流程如下:目的抗原基因的获得,插入到结构基因构建植物表达载体,通过农杆菌介导的转化使目的基因导入植物基因组中,进行愈伤组织的诱导和分化及转基因植物的再生,最后进行表达水平的检测和免疫原性的测定等过程。

2 外源基因在转基因植物中的表达及免疫原性

到目前为止,已经有乙型肝炎表面抗原(HBsAg)在烟草、马铃薯和番茄中表达且转基因植物表达的抗原与目前用作疫苗的酵母表达的rHBsAg十分相似,成功地保持了蛋白质的特性,如可激发B细胞和T细胞免疫反应的抗原决定簇。诺沃克病毒外壳蛋白(NVCP)在转基因烟草和马铃薯中的表达及其表达产物口服免疫原性。猪传染性肠胃炎病毒(TGEV)S蛋白在转基因芥菜和马铃薯中表达,完整S基因表达产物可诱导机体产生优良的免疫应答,

其抗体效价可达1:320以上。另外用转基因玉米表达了TGEV的S蛋白,并与TGE弱毒活疫苗比较,进一步证实TGEV转基因可食性疫苗对仔猪的保护效果优于TGE弱毒疫苗。大肠杆菌热敏肠毒素B亚单位(LT-B)和霍乱毒素B亚基(CT-B)基因在烟草和马铃薯中表达,表达产物免疫小鼠,强毒攻击试验结果表明,具有良好免疫原性。

另外,Carrillo和Wigdorovitz分别获得了口蹄疫病毒VP1基因的转基因拟南芥,用含rVP1的叶浸提物免疫小鼠,均可诱导特异性抗体的产生,且免疫鼠均可抗FMDV强毒攻击。Gil等成功地将犬细小病毒、口蹄疫病毒、牛轮状病毒的多肽与B-葡萄糖苷酶(GUS)蛋白融合进行了植物表达,用GUS融合表达的犬细小病毒VP2蛋白的抗原饲喂小鼠,可诱导产生中和抗体,融合蛋白含量占转基因植物叶片可溶性蛋白的3%。

3 转基因植物疫苗的优势及其前景展望

转基因植物作为疫苗生产的生物反应器,为人类提供了一个安全和廉价的生产体系,与微生物发酵、动物细胞和转基因动物等生产系统相比,它具有许多潜在的优势:a.植物细胞具有全能性,能够再生植株,转基因植物的种植不需要特殊技术和复杂的生产设备和设施,是最经济有效的疫苗生产系统,具有生产成本低的特点;b.常规疫苗和其他新技术疫苗在制备过程中,很容易发生外源性病原污染,尤其是一些对人类和动物健康影响较大的病原污染,而转基因植物疫苗传递系统无此缺陷,具有安全性好的特征;c.疫苗生产过程具有绿化、美化环境作用;d.贮存条件要求低,不需冷冻运输。因而在未来的疫苗研究及其产业化生产中具有广阔的应用前景。