

- 103 - 113.
- [9] Panneerselvam C., et al., 1987, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **84**:4465 - 4469.
- [10] Molinero P., et al., 2000, *Neuroimmunol.*, **103**:180 - 188.
- [11] Jose M. C., et al., 1996, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **224**:140 - 146.
- [12] Enkemann S. A., et al., 2000, *Cell Physiol.*, **182**: 256 - 268.
- [13] Calvo J. R., et al., 1989, *Gene Pharmacol.*, **20**:503 - 505.
- [14] Diaz J. C., et al., 1996, *Biochim. Biophys.*, **1296**: 219 - 227.
- [15] Karetsou Z., et al., 1998, *Nucleic Acids Res.*, **26**: 3111 - 3118.
- [16] Lukashov D. E., et al., 1999, *FEBS Lett.*, **451**:118 - 124.
- [17] Haritoo A. A., et al., 1985, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **82**:343 - 346.
- [18] Cristina D. J., et al., 1996, *Biochimica et Biophysica Acta.*, **1296**:219 - 227.
- [19] Katerina V., et al., 2000, *Experimental Cell Research*, **257**:152 - 161.
- [20] Douglas G. W., et al., 2001, *Neurobiology of Aging*, **22**:957 - 966.
- [21] Yuri P. R., et al., 1997, *FEBS Letters*, **413**:135 - 141.
- [22] Yui R., et al., 1996, *FEBS Letters*, **397**:215 - 218.
- [23] Nakielny S., et al., 1999, *Cell*, **99**:677 - 690.
- [24] Gorlich D., et al., 1994, *Cell*, **79**:767 - 778.
- [25] Enenkel C., et al., 1995, *Biol. Chem.*, **270**: 16499 - 16502.
- [26] Antonio P. E., et al., 2000, *Molecular and Cellular Biochemistry*, **208**:111 - 118.
- [27] Vartapetian A. B., et al., 1988, *FEBS Lett.*, **232**:35 - 38.
- [28] Makarova T., et al., 1989, *FEBS Lett.*, **257**: 247 - 250.
- [29] Fontoura B. M. A., et al., 1992, *Cell. Biol.*, **12**: 5145 - 5151.
- [30] Vartapetian A., et al., 1997, *RNA*, **3**:1173 - 1181.
- [31] Rubtsov Y. P., et al., 1997, *FEBS Lett.*, **413**: 135 - 141.
- [32] Hidefumi S., et al., 2001, *Cancer Letters*, **168**: 191 - 195.
- [33] Eckert K., et al., 1997, *Int. J. Immunopharmac.*, **19**:493 - 500.
- [34] Shiau A. L., et al., 2001, *Vaccine*, **19**:3277 - 3284.
- [35] 臧国庆等, 2001, 上海第二医科大学学报, **21**:193 - 195.
- [36] Mark W. T., et al., 1998, *Protein expression and purification*, **13**:383 - 388.
- [37] Francesco A., et al., 2002, *Mechanisms of Development*, **110**:213 - 217.
- [38] Adams M. D., et al., 1995, *Nature*, **377**:173 - 174.

FasL-Fas: 免疫豁免还是炎症?

刘照平

(上海第二医科大学 上海市免疫学研究所 上海 200025)

摘要 FasL, 又称死亡配体, 与其受体 Fas 分子(Fas)结合, 能诱导 Fas 阳性细胞的凋亡。免疫豁免区组织中组成性表达的 FasL 被认为是介导免疫豁免的关键分子, 一些肿瘤细胞也表达 FasL, 被认为是用来逃脱免疫攻击的手段。然而, 最近大量设想利用 FasL 来诱导异体移植的耐受却得出了相反的结果, FasL 引起严重的炎症反应使得移植排斥更为迅速。这使得人们对于 FasL 在介导免疫豁免中的作用提出了异议。本文就最近几年 FasL 的研究进展, 对这些非淋巴细胞表达的 FasL 在机体维持免疫豁免及诱发炎症中的关系作一讨论。

一、Fas、FasL 的分子特征^[1]

Fas(又称 APO-1, CD95)是 I 型跨膜蛋白, 属于肿瘤坏死因子(TNF)/神经生长因子(NGF)受体超家族, 其胞外结构域含有 3 个富含半胱氨酸的重复序列。它广泛表达于 B 细胞、活化的 T 细胞、肝细

胞和卵巢上皮细胞等多种类型细胞上。当其与相应抗体或天然配体 FasL 以三聚体形式结合后通常能诱发快速的细胞凋亡。FasL 属于 II 型细胞膜表面糖蛋白, 分子量为 40kD, 是 TNF 超家族成员, 在某

些情况下可被金属蛋白酶及顺铂等从效应细胞膜上切割下来,成为可溶性 FasL (sFasL),这样 FasL 就可以通过旁分泌方式诱发凋亡。在激活的 T 细胞、NK 细胞及免疫豁免区的基质细胞,如睾丸 Sertoli 细胞、眼角膜上皮细胞、视网膜细胞和一些肿瘤细胞中可检测到 FasL 的存在。

二、FasL-Fas 介导的细胞凋亡 信号传递途径^[2]

FasL 在细胞外与细胞膜表面的 Fas 结合后,引起 Fas 交联成三聚体或多聚体,即活化了细胞凋亡的信号转导途径。Fas 从而招募 Fas 相关蛋白 (FADD),FADD 其 C 端的死亡结构域 (DD) 负责和 Fas 分子胞内段上的 DD 结合,而 N 端死亡效应结构域 (DED) 则将死亡信号进一步向下传递,它与无活性的半胱氨酸蛋白酶 Caspase 8 (pro-caspase 8) 发生同嗜性交联,从而形成死亡诱导信号复合体 (DISC)。Pro-caspase 8 遂由单链酶原酶切成为有活性的双链蛋白,进而引起随后的 Caspases 级联反应,可通过直接或间接途径裂解和活化 Caspases 家族中的其他成员,如 Caspase 1,3,6,7。后者可酶切细胞内底物,从而核酸酶被激活,染色体 DNA 被降解,导致细胞凋亡。另一种含有 DED 的蛋白是受体作用蛋白 (RIP),它也能结合到 FADD 上启动其他的信号转导途径,包括引起 Caspases 不依赖的细胞凋亡,通过 Fas 转导的死亡信号传递途径可被 FADD 样 IL-1 β 转化酶抑制蛋白 (c-FLIP) 抑制。

三、活化的淋巴细胞上 Fas L-Fas 的效应意义

最初认为 FasL 与 Fas 的相互反应的意义主要在于活化的细胞毒 T 细胞通过 FasL-Fas 的介导可特异性杀伤靶细胞,是除穿孔素/粒酶系统外另一执行效应细胞功能的重要机制^[3]。后来发现突变小鼠 *lpr*、*lpr^g* 和 *gld* 都表现为广泛的淋巴组织增生,肝脾肿大等类系统性红斑狼疮病表现,并伴有 CD4⁺CD8⁻ T 细胞的失控性积聚^[2]。其中 *lpr* 小鼠的 Fas 基因的第 2 内含子中因有反转座子插入,不能转录完整的 mRNA,*lpr^g* 小鼠 Fas 的胞浆区中的 DD 发生突变,失去与 FADD 结合的能力,而 *gld* 小鼠的 FasL 基因有点突变,翻译出的缺陷型 FasL 失去激活 Fas 信号转导的功能。由于 Fas 信号传递途径的异常,导致这些动物发生免疫紊乱并有自身免疫疾

病的表现,既而认识到 FasL-Fas 参与了淋巴细胞的自身调控,通过激活诱发的细胞死亡 (AICD) 对免疫应答起负调节作用,以调控免疫应答的强度。AICD 清除不需要的淋巴细胞,限制已发生特异性免疫应答的淋巴细胞克隆;也清除那些逃避了胸腺选择的自身反应性 T 细胞^[1]。

四、FasL 诱导免疫豁免在同种 异体移植中的应用

FasL 的调节功能中令人最感兴趣的是它在免疫豁免区中保护组织不会因局部免疫反应而受损。同样,一些肿瘤细胞表达 FasL 使得肿瘤能逃脱免疫杀伤。在免疫豁免区中免疫应答受到限制或被阻止,对于这种现象的一个解释是由于前凋亡分子 Fas 受到它的配体 FasL 的作用,导致浸润的 Fas 阳性的炎症细胞 (包括免疫细胞) 凋亡,结果限制了炎症反应。眼是免疫豁免区,一般情况下不会发生炎症反应毁坏组织。最早认为这是由于炎症细胞不能进入眼。然而,在眼的视网膜及角膜的基质细胞中发现 FasL 的组成性表达,提示炎症细胞确实能进入眼组织,不过这些细胞立即被 FasL 杀死。当不表达功能性 FasL 的小鼠眼睛被疱疹病毒感染时,引起很强的炎症并损坏眼睛,而野生型小鼠被感染后只引起短暂的炎症反应^[4]。另外,尽管从野生型小鼠来源的角膜同种异体移植体能很好地存活,而从 *gld* 小鼠来源的则遭到排斥。这些结果都表明角膜上表达的 FasL 能在移植中保护角膜存活。同样,睾丸组织细胞表达的 FasL 在保护同种异体移植中起至关重要的作用^[5]。Bellgrau 等将表达 FasL 的野生型小鼠睾丸移植入异体小鼠肾囊,结果移植长期存活^[6]。

组织正常表达的 FasL 能诱导免疫豁免的现象,促使人们探索利用基因工程技术人为诱导组织表达 FasL 来保护移植物的存活。其中一例是:将表达 FasL 的载体质粒 (pFasL) 以不同的剂量转染到小鼠肝脏中,结果显示只有转染了适量 pFasL 的小鼠能存活,而且能明显提高同种异体移植 (肝移植) 的存活时间。过高的转移量直接导致了转染小鼠发生致死性肝炎,转移剂量过低的小鼠虽能存活,但不能延长移植物的存活时间^[7]。还有,通过腺病毒将 FasL 转移至大鼠肾脏,能延缓同种异体移植遭受排斥^[8,9]。在一实验系统中,FasL 在肾的表达能持续 2 周,移植后肾的存活从正常的 12 天延长到 28

天。在另一系统中,移植物存活长达56天。

另一个成功的例子是大鼠肺的同种异体移植模型^[10]。将 FasL 基因转移到移植的肺组织并结合环孢菌素 A 处理,与对照组相比,移植5天后,气体传输(一项预测移植物存活的客观指标)大为好转,急性的排斥也由于 FasL 的表达而减轻。类似的,在移植血管到啮齿类动物模型前,由腺病毒将 FasL 基因导入血管内皮细胞,一星期后减少了 T 细胞和巨噬细胞的浸润,2个月后降低了血管的病变^[11]。还有,转染 FasL 基因至甲状腺(甲状腺滤泡细胞),随后移植甲状腺到基因型不同的小鼠,结果移植物完全不受排斥^[12]。这与 FasL 的表达水平有关——表达水平越高,移植耐受性越好。因此,上述的在肝、肾、肺血管和甲状腺等组织,FasL 的引入性表达保护了同种异体移植物免受排斥。

FasL 阻止移植排斥的直接证据还来自下述实验:转染了 FasL 的同源肌细胞分布在同种异体胰岛群周围,使得移植的胰岛能长时期的存活,不过,这需要肌细胞上 FasL 的持续表达^[13]。某些特定肿瘤表达的 FasL 也支持 FasL 在免疫豁免中的作用。这些研究基于下述理论:肿瘤可能通过建立一个“免疫豁免区域”在免疫应答中保护它们自己。黑色素瘤^[14]和星形瘤^[15]表达功能性 FasL 并杀死浸润到肿瘤的淋巴细胞。使用 lpr 鼠作为宿主能导致对肿瘤的有效的反应^[16]。类似的,大鼠组织细胞瘤表达 FasL,注射到小鼠腹膜下,能杀死 NK 细胞,否则 NK 细胞会杀死肿瘤^[17]。其他研究表明肿瘤细胞表达的 FasL 抑制了抗肿瘤抗体的产生,减少了细胞毒 T 细胞的数量及对肿瘤的免疫攻击,反而引发了肿瘤对细胞毒 T 细胞的反向攻击^[18]。然而,其他研究表明不同的肿瘤对强加表达 FasL 会介导不同的结果(下述)。

五、FasL 介导的炎症反应

并非所有增加表达 FasL 以提高同种异体移植耐受的尝试都成功了。FasL 在某些特定组织的表达确实能介导免疫豁免,但是它在另外一些组织中的表达却可引起中性粒细胞的浸润和组织损伤。首先是避免上述实验^[13]中胰岛和同源成肌细胞的共定位(colocalization)问题,研究者们通过腺病毒载体介导基因转移到完整的胰岛上,或建立只在胰岛 β -细胞上表达 FasL 的转基因小鼠,让 FasL 直接表达于胰岛上^[19,20]。在这两个实验中,FasL 的表达产生了出乎意料的结果,引起大量中性粒细胞浸润,发生炎症反应,造成移植物的损伤。类似的,FasL

转基因的心脏在同种异体移植中被排斥的更为迅速,并伴随大量的中性粒细胞的浸润^[21]。

Seino 等^[22]报道肿瘤细胞上的 FasL 能招致粒细胞介导的排斥反应。将表达 FasL 的肿瘤植入皮下或腹膜下,引起了 Fas 依赖的方式招致粒细胞的浸润,导致排斥,这与上文^[15-18]提及的 FasL 在肿瘤中介导免疫抑制并不一致。还有,T 细胞的活化需要同源抗原递呈细胞(APC)提供活化信号。研究者们设想假如在 APC 上表达 FasL,则 APC 可能传递给 T 细胞死亡信号而非活化信号,从而导致抗原特异性 T 细胞耐受。树突状细胞(DC)是最主要的 APC,Sofia 等将编码小鼠 FasL 的重组逆转录病毒转导入野生型小鼠骨髓分化来源的 DC 中,结果表达 FasL 的“杀伤者”DC(“killer”DC)很快死亡。只有 lpr 小鼠的 DC 在转导了 FasL 后能存活,但在体内不能诱导耐受^[23]。这些结果都使得人们开始重新认识 FasL 在免疫豁免及肿瘤免疫中的作用。

Shimizu M 等^[24]为探明 FasL 转基因的肿瘤是如何诱导中性粒细胞浸润及杀伤肿瘤的,他们把转染了 FasL cDNA 的肝癌细胞(G2)分别注射入野生型、lpr^o/lpr^o(lpr^o)(Fas 的 DD 发生突变)和 gld/gld lpr/lpr(gld/lpr)小鼠中,结果发现在野生型小鼠中有大量中性粒细胞的浸润导致瘤细胞的根除。但是在 lpr^o及 gld/lpr 小鼠中无这样严重的浸润并形成肿瘤。野生型小鼠中瘤细胞周围有大量的细胞残骸,提示浸润到肿瘤周围的粒细胞发生凋亡,而在那两种突变型小鼠中,发现只有少数中性粒细胞浸润到瘤细胞中,且细胞形态完好。这些结果表明 Fas 的 DD 在 Fas 介导中性粒细胞的凋亡中发挥重要作用,提示中性粒细胞及表达 FasL 的肿瘤细胞的凋亡结果招致大量中性粒细胞的浸润,引起严重的炎症反应,最终导致了肿瘤细胞的清除。以上的研究^[19-24]表明肿瘤细胞表面强加表达的 FasL 能引起中性粒细胞介导的炎症反应,因此在被接种的动物中产生了 T 细胞不依赖的抗肿瘤效应。然而最近,Tada 等^[25]用基因突变小鼠分析肿瘤上强加表达的 FasL 引起的抗肿瘤应答,发现 T 细胞也可以是 FasL 介导的抗肿瘤(肿瘤中 FasL 强加表达)应答中的效应细胞。所以其导致炎症反应的过程可能是多种免疫细胞共同参与的。

六、凋亡或炎症

为什么有一些强加表达的 FasL 在一些同种异体移植中起保护作用,而有一些却加速排斥或造成

粒细胞增多,使得移植物受损?在实验性的 FasL 高表达的同种异体移植物的发现 FasL 经常触发炎症反应。FasL 除了能诱导凋亡外,还能够触发 Caspase 介导的通路及分泌前炎症因子,包括 IL-1 β 和 IL-18。IL-1 β 的一个炎症效应是由于它的化学趋化作用招募巨噬细胞。Caspases 因此在 FasL 介导的凋亡及炎症反应之间提供了一个联系。FasL 也能直接在一些类型的细胞中上调各种细胞因子(如 IL-8)^[25]。

现已清楚没有一个单独因子的作用能介导免疫豁免,影响 FasL 诱导结果的因素是多方面的:

1) FasL 的表达部位(正常/非正常) 表达部位本身对于 FasL 诱导的结果是非常重要的。使用基因工程方法使肿瘤细胞高表达 FasL,结果诱导中性粒细胞毒,导致肿瘤被排斥——甚至是在缺乏 T 细胞的裸鼠中^[22]。转基因表达的 FasL 在小鼠的胰岛 β -细胞中引起中性粒细胞毒^[20]。显然,原因之一就是 FasL 作用于组织而非淋巴细胞,因为它“异常”地表达在这些组织或细胞中。而在 FasL 正常表达(如眼、睾丸和激活的 T 细胞)的部位,则不会发生炎症^[26]。至今,在生理状态下,还没有正常表达的 FasL 诱导粒细胞反应的报道。但是以往认为的内源性表达的 FasL 总能促进肿瘤生长的想法也受到了冲击。最近,Chio 等发现肿瘤中内源性表达的 FasL 也并不总是促进肿瘤生长的。他们通过基因打靶技术在人的神经胶质瘤细胞中下调 FasL,结果发现,在体外,低表达 FasL 的瘤细胞生长得更快,自然凋亡发生得更少。在裸鼠体内,FasL 下调的瘤细胞也较少发生凋亡,生长的更快,形成的肿瘤更大,肿瘤区浸润的细胞也明显减少^[27]。Kurooka 等也发现 Fas-FasL 单独作用不能影响肿瘤生长^[28]。

2) FasL 的表达水平 FasL 的表达水平对不同的组织产生不同的结局,如高表达对甲状腺是有利的^[12],对肝脏却不一定有利^[7]。Nelson 等^[29]建立了只在心肌细胞表达 FasL 的能稳定繁殖的转基因小鼠。FasL 在心脏的表达引起了白细胞的浸润和心肌肥大,但是并没有像其他实验中那样引起强烈的炎症而导致组织的严重毁坏。而且,转基因心脏组织病理、功能及炎症分子结果的改变是转基因剂量依赖的。这些实验数据均表明不同的组织环境中只有各自适度的 FasL 的表达才会起诱导免疫耐受作用。

3) FasL 表达的调控 比如,在眼组织中,FasL 的表达及活性不断受到各种免疫豁免调节因

子的影响,而将高表达的 FasL 强行放到一个无各种调节因子的环境中,它的活性便不能被控制。甚至于表达的方式都能影响最终的结果,尽管这还有待于进一步探索。

4) 微环境的调节作用 免疫豁免区中存在许多其他的免疫抑制因子可影响 FasL 的功能。比如,TGF- β 和血管作用的小肠肽在眼中组成性表达;人类的各种肿瘤也发现 TGF- β ^[30]。现已证明与 TGF- β 的共转染能阻止移植物上强加表达的 FasL 引起的炎症反应。Chen 等^[31]将只转染了 FasL 的结肠癌组织移植到皮下,引起大量的中性粒炎症细胞浸润,造成肿瘤破坏。而将此肿瘤移植到眼中(眼中 TGF- β 和免疫豁免调节因子很丰富)则无粒细胞浸润。他们又给结肠癌同时转染并稳定表达 FasL 和 TGF- β ,再移植到皮下可见到肿瘤生长。这些抗炎分子可能起到消除在 FasL 介导的凋亡中释放的前炎症因子的作用,因此能够在介导抗肿瘤的粒细胞的凋亡时不诱导炎症。另外一个有趣的现象是视网膜上皮细胞及角膜中发现 IL-1 受体拮抗剂 mRNA,IL-1 受体拮抗剂可抑制 IL-1 的致炎症作用。还有,眼睛没有已知的淋巴引流系统,几乎不含抗原递呈细胞,只有极低量的 MHC 分子,并对诱导免疫应答极为微弱^[32]。因此,眼睛的微环境在几个原因上都是免疫抑制的。

5) 其他因素 例如 FasL 的多态性、FasL 的表达形态(膜态还是可溶性态)都有可能导致 FasL 启动相反的结果。外源因子如 IL-1,IL-8 和 IL-18 及抗炎因子,包括 IL-10,TGF- β 或 IL-1 受体拮抗剂在各种组织中都不相同,它们对 FasL 的作用都有不同的影响。

七、展 望

关于组织中过量表达 FasL 引起组织的炎症反应,而不像预期的那样起免疫抑制作用,其分子机制仍有待于进一步阐明。从目前的研究结果来看,FasL 可能具有抗炎及致炎的双重功能,这取决于 FasL 的表达水平及所处的微环境。需要指出的是,FasL 不是唯一的免疫豁免调节分子,免疫豁免是多种因子共同参与和调节的过程。还有,也不存在阻隔炎症反应的绝对屏障,免疫豁免区也有炎症疾病发生,尽管相对较少。上述问题的继续探索能更好地阐明 FasL 诱导免疫豁免的确切机制,使我们能够模拟各种微环境,更加合理地应用 FasL,找到提高移植耐受和攻克肿瘤逃逸的新方法。

参 考 文 献

- [1] Nagata S. ,1997, *Cell* ,**88**(3):355-365.
- [2] Green DR. et al. ,1995, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*,**2**(12):917-924.
- [3] Smyth MJ. et al. ,1995, *Immunology Today* ,**16**(4):202-206.
- [4] Griffith TS. et al. ,1995, *Science* ,**270**:1189-1192.
- [5] Stuart PM. et al. ,1997, *Journal of Clinical Investigation* ,**99**(3):396-402.
- [6] Bellgrau D. et al. ,1995, *Nature* ,**377**:630-632.
- [7] Li XK. et al. ,1998, *Transplantation* ,**66**(11):1416-1423.
- [8] Swenson KM. et al. ,1998, *Transplantation* ,**65**(2):155-160.
- [9] Ke B. et al. ,2000, *Transplantation* ,**69**(8):1690-1694.
- [10] Schmid RA. et al. ,2000, *Transplant International* ,**13** S1:S324-328.
- [11] Sata M. et al. ,2001, *J. Immunol.* ,**166**:6964-6971.
- [12] Tourneur L. et al. ,2001, *Journal of Immunology* ,**167**(3):1338-1346.
- [13] Henry T. et al. ,1996, *Science* ,**273**:109-112.
- [14] Hahne M. et al. ,1996, *Science* ,**274**(5291):1363-1366.
- [15] Saas P. et al. ,1997, *Journal of Clinical Investigation* ,**99**(6):1173-1178.
- [16] Seino K. et al. ,1998, *J. Immunol.* ,**161**:4484-4488.
- [17] Khar A. et al. ,1998, *Cell. Immunol.* ,**189**:85-91.
- [18] Arai H. et al. ,1997, *Nature Med.* ,**3**:843-848.
- [19] Kang SM. et al. ,1997, *Nature Medicine* ,**3**(7):738-743.
- [20] Allison J. et al. ,1997, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* ,**94**:3943-3947.
- [21] Takeuchi T. et al. ,1999, *Journal of Immunology* ,**162**(1):518-522.
- [22] Seino K. et al. ,1997, *Nature Medicine* ,**3**(2):165-170.
- [23] Buonocore S. et al. ,2002, *Transplantation* ,**73**(S1):S27-30.
- [24] Shimizu M. et al. ,2001, *Cellular Immunology* ,**207**(1):41-48.
- [25] Tada Y. et al. ,2002, *International Journal of Molecular Medicine* ,**9**(3):281-285.
- [26] Schaub FJ. et al. ,2000, *Nature Medicine* ,**6**(7):790-796.
- [27] Chio CC. et al. ,2001, *British Journal of Cancer* ,**85**(8):1185-1192.
- [28] Kurooka M. et al. ,2002, *Cancer Research* ,**62**(5):1261-1265.
- [29] David P. et al. ,2000, *Journal of Clinical Investigation* ,**105**:1199-1208.
- [30] O'Connell J. et al. ,2001, *Nature Med.* ,**7**:271-274.
- [31] Chen JJ. et al. ,1998, *Science* ,**282**:1714-1717.
- [32] Ferguson TA. et al. , (Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001), in *Samter's Immunologic Diseases* Vol. II(eds Austen, A. & Cantor, H.)673-676.

葫芦科作物转基因研究进展

于天祥 张明方

(浙江大学园艺系 杭州 310029)

葫芦科作物是重要的世界性经济作物,品种丰富,种类繁多,在蔬菜作物中占有极重要位置。其果实中含有丰富的碳水化合物、矿物质和抗坏血酸。葫芦科作物中的西瓜、甜瓜果实中还富含脲化酶,能帮助分解食物中的蛋白质,深受人们喜爱。西瓜、甜瓜均被列入世界十大水果之列,我国的栽培面积和总产量均占世界的1/2左右。葫芦科作物的遗传改良被世界各国所重视。迄今为止,利用转基因技术已经培育出抗病、抗逆、延迟成熟和高品质的葫芦科作物品种,本文就转基因葫芦科作物的研究进展及

其发展方向作一简要综述。

一、转基因体系的建立

通过有效的方法将外源基因导入植株是转基因技术的关键。葫芦科作物的子叶外植体具有高效的转化再生频率,广泛用于转基因再生体系。常用的外源基因导入方法主要有农杆菌介导法^[1]、花粉管通道法^[2]、DNA浸胚法^[3]和基因枪法^[4],其中农杆