

# 核移植技术研究进展

徐 营 杨利国

(南京农业大学动物科技学院 南京 210095)

核移植(nuclear transplation, NT)是将动物早期胚胎或体细胞的细胞核移植到去核的受精卵或成熟卵母细胞中、重新构建新的胚胎,使重构胚发育为与供核细胞基因型相同后代的技术过程,又称动物克隆技术。广义的胚胎克隆技术还包括胚胎分割和卵裂球培养,通常所指的胚胎克隆技术是指狭义概念,即核移植技术。1938年 Spmann 在所有胚胎细胞都具有与受精卵完全相同、拥有潜在发育全能性的细胞核基础上提出了细胞核移植的概念<sup>[1]</sup>。早期核移植实验是在变形虫、蛙、爪蟾、非洲爪蛙等两栖类和鱼类上进行的核质关系研究<sup>[2-6]</sup>,随着胚胎技术的不断进步,逐步发展为哺乳动物胚胎克隆和体细胞克隆。

## 一、核移植的生物学意义

核移植技术是研究胚胎细胞核发育全能性以及核质关系的重要手段。体细胞核移植揭示了细胞质对细胞核的巨大影响作用,可增进对细胞分化、细胞全能性等发育生物学基本问题的深入认识;细胞具有发育所需全部遗传信息,一旦分化,只能按既定方向发育,但核移植说明已经高度分化的体细胞核仍具有发育全能性(Totipotency),即能够再程序化(Reprogram),并指导早期胚胎细胞发育成新个体。体细胞

核移植的成功说明高度分化的细胞也能够一定条件下分化而恢复其全能性,发生基因表达时序再程序化<sup>[7]</sup>。早在60多年前,Spemann等就提出了核等能性(Nuclear equitancy)或基因组发育时期连续性(Continuity of the genome during development)的观点<sup>[1]</sup>。成年动物体细胞克隆后代的产生,证实了上述观点,即哺乳动物细胞分化是一种系统、连续的基因表达上的改变,这种改变是由于核质间的相互作用造成的,并未包含不可逆转的基因修改。

## 二、哺乳动物核移植研究概况

作为近年来研究热点的动物克隆研究,按照供体核的来源不同经历了以下三个发展阶段:1. 胚胎细胞核移植,已在多种动物上获得成功,如表1所示;2. 早期胚胎细胞为供核体,经核移植获得的早期胚胎再作为供核体进行多代克隆,即连续细胞核移植,如表1所示;3. 体细胞核移植(取得的成果如表2所示)。1997年英国罗斯林研究所 Wilmot 等首次报道以高度分化的成年母羊乳腺细胞和胎儿成纤维细胞为核供体克隆绵羊(Dolly)成功<sup>[8]</sup>,次年美国夏威夷大学 Wakayama 等用不同的技术路线(“檀香山技术”)克隆出小鼠<sup>[9]</sup>。“檀香山技术”与传统的核移植技术主要有以下两点区别:1)移核后停留一

表1 国内外首例胚胎细胞核移植动物

动物	核供体	重组胚发育时期	产仔数	作者(文献)
小鼠	胚内细胞团	叠萼胚、囊胚	3	Illmensee K, et al. Cell. 1981, 23:9-11*
	2-细胞胚		6	陆长富, 卢光秀等. 遗传. 1997, 19(4):4
绵羊	8-细胞胚	囊胚	3	Willadsen S M. Nature. 1986, 320:63-65
	内细胞团 6-13代	桑葚胚、囊胚	4	Campbell K H. Nature. 1996, 380:64-66
牛	2-32 细胞胚	桑葚胚、囊胚	2	Prather R S. Biol Rep. 1987, 37:859-866
	16-64 细胞胚(1-4代)	桑葚胚	2	Stice S L, et al. Biol Rep. 1993, 48:715-719
	8-32-细胞胚	桑葚胚、囊胚	1	李雪峰等. 畜牧兽医学报. 1996, 27(6):495-500
兔	8-细胞胚	桑葚胚、囊胚	6	Stice S L, et al. Biol Rep. 1988, 39:657-644
	32-细胞期胚	囊胚	3	王斌, 范必勤等. 江苏农业学报. 1991, 7(增刊):1-5
大鼠	原核胚	2-细胞	9	Kono T, et al. J Exp Zool. 1988, 248:303-305*
猪	原核胚和 4-细胞胚	桑葚胚、囊胚	8	Prather R S. Biol Rep. 1989, 41:414-418
	4-8-细胞胚	4-细胞期	5	赵浩斌等. 武汉大学学报, 1997, 43(4):505-510
山羊	4-32-细胞期胚	卵裂期	5	张涌, 王建辰等. 中国科学. 1991, 24(5):1-6
	8-16-细胞胚第二代	卵裂期	4	邹贤刚, 杜森等. 科学通报. 1995, 40(3):265-267

注: \* 为去核受精卵作为胞质受体, 其余都为去核卵母细胞作为胞质受体。

表2 体细胞核移植进展

动物	核供体	产仔	作者(文献)
小鼠	卵丘细胞 1-3代	50余只	Wakayama T, et al. Nature. 1998, 394: 369-374
	雄鼠睾丸支持细胞	附植, 中途流产	Wakayama T, et al. Nature. 1998, 394: 369-374
	雌鼠神经细胞	附植, 中途流产	Wakayama T, et al. Nature. 1998, 394: 369-374
绵羊	乳腺细胞	1	Wilmot I, et al. Nature. 1997, 385: 810-813
	胎儿成纤维细胞	3	Wilmot I, et al. Nature. 1997, 385: 810-813
牛	输卵管/子宫上皮	3(1头生后死亡)	Kato Y, et al. Science. 1998, 282: 2095-2098
	卵丘细胞	5(3头生后死亡)	Kato Y, et al. Science. 1998, 282: 2095-2098
	颗粒细胞	2	Wells, et al. Reprod Fertil Dev. 1998, 10: 369-378
	犊牛耳部皮肤细胞	1妊娠, 1产仔	Vignon X, et al. Therigenology. 1998, 49: 392
	成年牛肌肉细胞	2	Vignon X, et al. Therigenology. 1999, 51: 216
	乳腺细胞 1-5代	妊娠	Zakhartchenko V, et al. Therigenology. 1999, 51: 216
	耳部成纤维细胞	妊娠	Zakhartchenko V, et al. Therigenology. 1999, 51: 216
	胎儿成纤维细胞	1	Vignon X, et al. Therigenology. 1998, 49: 392
	高龄牛耳部细胞	10	杨向中. 未见公开报道
	大熊猫	体细胞核移入兔卵胞质中	囊胚
山羊	30日胎成纤维细胞	2	Wang YG, et al. 科学通报. 1999, 44(21): 2319-2322
	40日胎成纤维细胞	3	Baguisi, et al. Nature Biotech. 1999, 17: 456-461
猪	培养的成体颗粒细胞	5	Lrina AP, et al. Nature. 2000, 407: 86-90
	胎皮细胞	1	Onishi A, et al. Science. 2000, 289: 1188-1190

段时间(1-6小时)进行激活处理,给卵母细胞时间来改变供体DNA,从而使发育所需的基因能够表达;2)用镉激活。1999年 wells等结合超声波活体采卵技术,用牛的卵丘细胞克隆出即将绝种的一种珍稀家牛<sup>[10]</sup>,这为核移植技术拯救濒危动物展示了光明的前景;另外,美国物理学家 Richard将启动克隆成年人的计划,旨在使那些先天无生育能力的夫妻能拥有自己的孩子<sup>[11]</sup>,从此也引发了对体细胞克隆技术的各种争论。

### 三、核移植技术操作方法

#### 1. 卵母细胞去核和受体细胞准备

核移植操作目前均以发育至减数分裂中期II的成熟卵母细胞为受体,与早期的去核受精卵相比,接受外源细胞核后具有更高的发育潜力<sup>[12,13]</sup>。去核的方法主要有以下三种:1)盲吸法:用微细玻璃管将第一极体连同其下质膜包围的部分胞质(含中期染色体)除去,用荧光染料 Hoechst33342对卵母细胞进行活体染色,在紫外光下去核,可提高去核成功率,但此种染料妨碍胚胎附植前的进一步发育<sup>[14]</sup>;2)半卵法:用微细玻璃管吸去一半细胞质至另一空透明带内,用 Hoechst33342染色确定不含染色体的一半为胞质受体;3)功能性去核:用 Hoechst33342活体染色后用紫外线照射,使核丧失功能,此法虽然避免了对卵母细胞的机械损伤,但紫外线照射对胞质和克隆胚胎发育能力的影响尚需进一步研究。

#### 2. 供体核准备

1) 供体核来源 供体核来源于2-细胞期到囊胚期早期等早期胚胎和体细胞。早期胚胎先用蛋白酶K、链霉菌蛋白酶或酸性PBS(无Ca<sup>2+</sup>)处理以软化透明带,然后用吸管轻轻吹打,使卵裂球分离获得供体核;体细胞常采用胎儿成纤维细胞、卵丘细胞、乳腺细胞等,来源丰富,但像淋巴细胞发生了不可逆的遗传物质重组或有些发生染色质减少、丢失等变化的细胞是不能作为供核细胞的<sup>[15]</sup>。

2) 供体核细胞周期同步化 获取同步化细胞多采用控制细胞培养基中的某种成分,使大部分细胞滞留在细胞周期某一阶段的方法。该法一般称为“人工捕获”法:如用秋水仙胺(Colcemid)和塞氨酯啶唑(Nocodazole)诱导M期同步化(有人认为塞氨酯啶唑对胚胎的毒性比秋水仙胺小得多<sup>[16]</sup>);用阿菲迪霉素(Aphidicolin)诱导G<sub>1</sub>期同步化<sup>[17]</sup>;用环己酰胺(Cycloheximide)诱导G<sub>2</sub>期同步化<sup>[18]</sup>;用血清饥饿培养法使供体核都处于G<sub>0</sub>期或G<sub>1</sub>期<sup>[8]</sup>。另一种方法是通过选择细胞类型来获得,其原理是基于不同类型的细胞在细胞周期不同阶段上的数目相差很大,如刚排出的卵母细胞周围的卵丘细胞90%以上处于G<sub>0</sub>或G<sub>1</sub>期<sup>[9]</sup>。

#### 3. 供体核的移植及细胞融合

供体核的移植是在显微操作仪上将供体核(或卵裂球)移入去核卵母细胞的过程;细胞融合逐步发展出以下几种方法:1)聚乙二醇法;2)病毒法;3)电

融合:在专用的电融合仪上进行,往往通过增加电刺激次数以提高移核细胞的激活率<sup>[19]</sup>,另外还通过化学试剂(如乙醇、钙离子载体、锶等)处理,以提高核移植的效率<sup>[9]</sup>。

#### 4. 核移植胚胎的培养和移植

核移植胚胎的培养分为体内和体外两种方法。体外培养操作简单,费用较低,但与早期的体内培养相比发育率较低。进一步改善体外培养体系,将有助于核移植技术的深入研究;克隆胚胎移植妊娠率和产仔率直接影响获得克隆动物的数量,是判定核移植效率的重要指标。因此,如何协调胚胎体外培养时间与受体的子宫环境,在今后的研究中仍需深入探讨。

### 四、影响核移植技术成功的关键因素

#### 1. 细胞周期的影响

核质相互作用过程是否协调是克隆胚胎发育至分娩的关键因素。胚胎的细胞周期由间期(又分为G<sub>1</sub>、S、G<sub>2</sub>期)和分裂期(M期)组成,早期胚胎细胞的S期较长,且时间相对恒定,G<sub>1</sub>期缺乏或很短,G<sub>2</sub>期变化大,导致胚胎卵裂球发育不同步。细胞间期阶段的进展主要受成熟分裂促进因子(Maturation or promoting factor, MPF)的调节。MPF是具有蛋白激酶活性的蛋白质复合体,由两个亚基组成(p<sub>34</sub><sup>cdc2</sup>, CyclinB),其活性受p<sub>34</sub><sup>cdc2</sup>磷酸化作用调节,在间期p<sub>34</sub><sup>cdc2</sup>的ATP位点被磷酸化,使MPF无活性<sup>[20]</sup>。成熟卵母细胞在细胞静止因子(Cytostatic factor, CSF)作用下滞留在MII期,胞质内含有丰富的成熟因子,受精或激活后使CSF活性消失,也使MPF激活,卵母细胞进入有丝分裂期。供体核与受体胞质细胞周期不同步时,引起核质不相容。研究表明,处于第二次减数分裂中期MII期的卵母细胞胞质中含有大量的MPF,这些因子可诱导供体核发生一系列形态变化,包括核膜破裂(NEBD),早熟凝集染色体(PCC)的出现。PCC和核膨大破裂是移入的细胞核重新编程的形态信号。研究发现,当供体核处于S期时,受体胞浆中高水平的MPF使染色体出现异常的概率显著升高,当供体核处于G<sub>1</sub>或G<sub>2</sub>期时,供体核同样会出现PCC现象,但对染色体没有损害,基于此,Cambell等提出两条协调供体核和去核卵母细胞的途径:(1)选取G<sub>0</sub>或G<sub>1</sub>期的细胞作为供体核,(2)选取MPF水平低时的卵母细胞做受体<sup>[18,21-23]</sup>。卵母细胞质中含有许多因子,对核的发育产生调控作用,只有将这些因子与核之间

的作用机制全部研究清楚,才能获得较高效率的核移植结果。

#### 2. 去核效果及核质比的影响

在核移植操作过程中如果去核不完全,可能导致胚胎染色体的非整倍性,造成卵裂异常、发育受阻和早期胚胎死亡。另外,去核操作中常破坏受体卵母细胞的正常生理状态,而且显微操作时,一般不易控制去除卵母细胞质的体积,从而发生重构胚的核质比变化,影响卵裂率和囊胚发育率。据推测,细胞质内母源mRNA的量是核质比影响胚胎发育的重要原因之一<sup>[19]</sup>。

#### 3. 移核操作的影响

供体核的分离方法常导致实验的不稳定性,影响核移植克隆胚胎的发育。基于细胞质对细胞核发育的影响,Wakayama等主张在将供体核移入去核卵母细胞时应尽可能少地携带供体细胞的胞浆,其中可能含有影响胚胎发育的因子<sup>[9]</sup>。

#### 4. 卵母细胞移核后激活效果的影响

卵母细胞的成熟程度及激活能力直接影响核移植的效果。成熟的卵母细胞质能使移入的细胞核在形态和功能上发生变化,使供体核回复到初始状态,基因从头开始顺序表达,即核再程序化(Nuclear reprogramming)<sup>[7]</sup>。而核再程序化是否完全,关系到核移植胚胎的发育能否启动,也是影响核移植成功率的关键因素<sup>[24]</sup>。卵母细胞激活能力的提高多采用增加电脉冲次数和添加化学物质的方法。应用的化学物质主要是锶和细胞松弛素B。锶可以刺激卵母细胞内储钙的释放,而这种内储钙的释放是受精后开始卵裂的信号;细胞松弛素B可以抑制极体的形成,使卵母细胞直接进入有丝分裂过程<sup>[9]</sup>。

#### 5. 基因印迹(imprinting)作用

基因印迹作用在哺乳动物的发育过程中普遍存在,影响核移植后的基因组重新编程,但其与动物克隆的成功与否有何关系,尚需深入研究<sup>[27]</sup>。

### 五、核移植技术的应用前景

核移植技术特别是体细胞核移植技术可以说为生物学带来了一场革命,也为人类的科学研究提供了许多新的思路:1. 利用核移植技术可以大规模地生产具有优良性状、理想性别、相同遗传背景的克隆动物,这无疑是动物育种方面最具潜力的方法之一;2. 将克隆技术用于复制濒危动物扩大其种群:Dominko等发现去核的牛卵母细胞能使来自羊、猴、鼠、猪等不同种属的细胞核激活并在体外发育为相

应的胚胎,但目前还无一个可继续发育为完整的动物个体,如果这项工作能成功,将十分有利于濒危动物的保护<sup>[27]</sup>。我国科学家提出用异种核移植技术克隆大熊猫,把大熊猫体细胞核移到兔去核卵细胞中,可发育到囊胚<sup>[28]</sup>;3.通过核移植技术的研究,可以进一步了解细胞衰老过程中细胞质发生的变化,找出引起细胞衰老死亡的因子,提高人类的生存质量,并对细胞的程序化死亡研究提供一种新的思路和方法;4.体细胞核移植技术结合基因打靶技术(gene targeting)、胚胎干细胞技术将提高转基因动物的生产效率,因为用做核供体的细胞是确证整合了某一外源基因的细胞,一旦移植成功,就意味着得到了转基因动物。此外,核移植制备转基因动物还有性别提前确定、转基因定点整合效率高等优点,采用此法已成功获得了6只转基因绵羊和3头转基因牛<sup>[29,30]</sup>。由于转基因生物反应器可以降低人类所需蛋白类药物的成本,确立转基因动物的无性繁殖技术,更具有深远的现实意义;5.通过深入研究细胞质对核的调控作用,控制胚胎的细胞分化方向,有望获得适合向人体移植的具有遗传改变的动物器官,通过体细胞核移植技术,可以避免不必要的免疫排斥作用。目前英国已批准了利用克隆技术进行人类胚胎干细胞研究;6.利用核移植技术可以建立具有某种疾病的动物模型系统,并可加快模型系统的建立速度。

### 结束语

随着生物技术的不断发展,总会出现一些新问题,人类的研究领域也将不断拓展,认识不断深入。目前,核移植技术受理论和实际操作所限,离实现产业化尚有一段距离,还需要研究人员共同努力来实现其技术的完善化。核移植技术仍然存在着费用高昂、效率低(Dolly为1/277)以及畸胎、死胎、难产、晚产等一系列问题,通过细胞核移植技术获得的个体中经常出现生理或免疫缺陷。以牛为例,大部分克隆牛已相继死去,观察结果表明,因部分犊牛胎盘功能不完善,其血液中含氧量及生长因子的浓度都低于正常水平<sup>[25]</sup>,而法国的一头克隆小牛更是由于先天的免疫缺陷而发炎致死;另外有些克隆牛的出生体重大得惊人。核移植过程中,非常有可能混入了核以外的遗传信息—线粒体DNA,这可能因为胚胎基因表达的变化,从而影响胚胎发育<sup>[26]</sup>;最近的研究发现3岁的克隆绵羊Dolly的端粒体比预期短20%,与其9岁供体母羊的端粒体长度相近。端粒

体长度缩短是细胞衰老的标志,预示Dolly可能提前衰老<sup>[31]</sup>。这些都不禁为我们提出了一个值得思考的问题,即有无可能和如何解决克隆动物生理和免疫缺陷问题,找出产生问题的根本原因,降低成本,提高成功率,这也是今后胚胎学家所应该积极努力的方向。有关专家提出以下几个问题需亟待解决:1)什么是启动细胞分化的分子信号,以便使这个细胞重新具有全能性;2)体细胞克隆时,供体细胞核是否会记住其细胞年龄;3)连续克隆动物是否会累积突变基因。

### 摘 要

核移植技术具有重大的生物学意义,特别是体细胞核移植技术的成功表明动物分化的体细胞核可再程序化。经过几代科学家的努力,核移植技术得到了飞速发展并形成了一整套比较完善的操作方法。虽然核移植技术目前仍存在着许多问题,但随着对影响核移植成功的多种因素的深入研究,其在拯救濒危动物、转基因动物研究、人类器官移植等许多方面的应用前景也将更加广阔。

### 参 考 文 献

- [1] Spemann H., 1938, Embryonic development and induction, New York. :Hafner Publishing Co, 210-211.
- [2] Commandon J, et al., 1939, Soc Biol (paris), 130: 744-748.
- [3] Briggs R, and King TJ., 1952, Proc. Natl Acad Sci USA, 38:455-463.
- [4] Danielli JF., 1959, Exp Cell Res (suppl), 6:252-267.
- [5] Gurdon JB., 1962, J. Embryol. Exp. Morphol., 10: 622-640.
- [6] De Robertis EM, and Gurdon JB., 1977, Proc Natl Acad Sci USA, 74:2470-2474.
- [7] Collas P, Robl JM., 1991, Biol Reprod, 45:455-465.
- [8] Wilmut I, et al., 1997, Nature, 385:810-813.
- [9] Wakayama T, et al., 1998, Nature, 394:369-374.
- [10] Wells DN, et al., 1999, Theriogenology, 51: 217 (abstract).
- [11] Kestenbaum D., 1998, Science, 279:315.
- [12] Dibarardino MA, Orr NH., 1992, Differentiation, 50: 1-13.
- [13] Willadsen SM., 1986, Nature, 320:63-65.
- [14] Bondioli KP, et al., 1990, Theriogenology., 33:165-174.
- [15] Müller WA 著. 黄秀英等译, 1998年, 发育生物学, 第169-171页, 北京: 高等教育出版社; 海德堡: 施普林出版社.
- [16] Kato Y, and Tsunoda Y., 1992, J. Reprrod Fertil, 95:39-43.
- [17] 陈永福, 刘林, 戴蕴平等, 1996, 自然科学进展—国家重点实验室通讯, 6(1):67-74.

- [18] Campbell KHS, et al., 1993, *Biol Reprod*, **49**:933-942.
- [19] 李军锋, 2000, 中国养兔杂志, **1**:28-31.
- [20] Müller W A 著, 黄秀英等译, 1998年, 发育生物学, 第119-120页, 北京: 高等教育出版社; 海德堡: 施普林出版社.
- [21] Keith HS, et al., 1996, *Theriogenology*, **47**:63-72.
- [22] Campbell KHS, et al., 1994, *Biol Reprod*, **50**:1385-1393.
- [23] Campbell KHS, et al., 1997(Beijing), Cloned sheep by nuclear transfer from cultured differentiated cells. proceedings of International conference on Animal Biotechnology Suppl. Vol. 61-68. International Academic Publishers.
- [24] Selles F J, et al., 1992, *Genes Dev*, **6**:1202-1212.
- [25] Pennis E., 1998, *Science*, **279**:646-648.
- [26] 今井裕, 高桥清也著, 张明新等译, 1999, 草食家畜, **3**:27-29.
- [27] 程乐平, 景乃禾, 2000, 生命的化学, **20**(1):8-11.
- [28] 陈大元等, 1999, 中国科学(C辑), **29**(3):324-330.
- [29] Schmieke AS, et al., 1997, *Science*, **278**:2130-2133.
- [30] Cibelli JB, et al., 1998, *Science*, **289**:1256-1258.
- [31] Paul GS, et al., 1999, *Nature*, **399**(27):316-317.

## 植物反应器生产药物大分子的研究现状\*

杨蓉 朱睦元\*\*

(浙江大学生命科学学院 杭州 310012)

现代基因工程理论和技术的发展已经使许多有治疗作用、价值极高的蛋白质及多肽类激素在大肠杆菌、酵母或动物体外培养细胞中得到表达, 并由此建立了大规模的生产工厂。这种能将外源基因的信息转变成蛋白质的生物体叫生物反应器(bioreactor)。自1982年Gordon和Ruddle等人得到转基因鼠以来, 人们已开始利用动物的血液、乳液生产有医用价值的蛋白质药物, 这被称之为动物生物反应器<sup>[1]</sup>。与细胞培养繁殖相比, 植物所具有的自然属性, 使其作为生物反应器, 将具有更高的经济价值。随着基因工程技术的日新月异, 玉米、大豆、油菜等转基因作物(GMO)广泛种植, 大田化生产细胞分裂素、抗体、疫苗、酶等药物分子已不是梦想, 植物生物反应器(plant bioreactor)的概念也应运而生<sup>[2]</sup>。这个引起学术界及各个生物公司极大关注的新兴领域, 被称之为是“医学生物技术和农业技术的完美结合”。我们就该领域的研究进展、基因表达的特点及大田生产的风险评估作简单综述。

### 一、研究进展简介

植物抗体和疫苗一直是转基因植物作为生物反应器生产药物分子的研究热点。1989年Hiatt等在上世界上首次报道在植物中表达全长抗体, 随后IgG、IgM、IgG/IgA嵌合体、Fab、V<sub>H</sub>等抗体片段的表达使其在免疫治疗、提高植物抗病性、调控植物代谢等方面显示了一定的前景<sup>[3-5]</sup>。同时许多科学家开始了植物口服疫苗的研究<sup>[6]</sup>。Tariq用农杆菌介导转染烟草叶片和马铃薯块茎获得了肠毒素基因(LT)的表达, 它们侵染胃肠和呼吸道上皮黏膜表面, 刺激

粘膜免疫反应产生分泌型抗体SIgA, 实验证明通过口服疫苗能产生比注射产生更好的免疫效果<sup>[7]</sup>。这个重组疫苗的获得为植物口服疫苗的生产奠定了坚实的基础。至今已有霍乱弧菌毒素等十几种微生物病原体疫苗基因在植物体内得到表达<sup>[8-13]</sup>。Sandhu等在苹果原生质体内表达了呼吸道合胞病毒F基因, 以水果作为表达疫苗的载体, 使植物反应器的商业化前景更加令人鼓舞<sup>[14]</sup>。此外, 在植物体内表达人血清蛋白, 干扰素、胰岛素, 抗生物素蛋白(avidin)、抑蛋白酶肽(aprotinin)等的研究在国内外也取得了相当的进展<sup>[15-17]</sup>。目前, 植物反应器的研究已从烟草、马铃薯等模式植物转入禾谷类作物如水稻、玉米等, 而蛋白质多肽的表达、修饰、加工、提取等后期下游工作及转基因作物的安全性已成为该研究的讨论焦点。此外, 许多公司也加入该领域的研究, 其中孟山都和杜邦公司具有相当大的实力。对于生物学家来说, 在研究利用转基因植物生产药物分子时, 更重要的使命是保证药物分子的安全性和有效性。幸运的是人类在利用某些动物与细菌细胞大规模生产已积累了较多的经验。我们有理由相信, 植物将成为生产药物分子的“活的工厂”。

### 二、基因表达的有效性

植物表达载体的构建对外源基因的表达将产生极大的影响, 而组织特异性表达可使外源蛋白特异性定

\* 本研究得到国家自然科学基金(39770420、30100115)、浙江省自然科学基金(300255)和省科技厅重点项目(011102186)资助。

\*\* 通讯联系人。