

# 转基因胡萝卜的研究进展

朱晓艳, 于丽杰

(哈尔滨师范大学 生命科学与技术学院, 黑龙江 哈尔滨 150025)

**摘要:**转基因胡萝卜近年来在分子生物学上研究广泛,在基础研究和生产实践上都具有重要意义。现对转基因胡萝卜在耐盐、抗病、抗寄生方面以及以胡萝卜作为生物反应器的研究进展进行了综述,并对转基因胡萝卜在其它领域的发展前景进行了展望。

**关键词:**转基因植物;胡萝卜;研究进展

**中图分类号:**S 631. 203. 6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2012)02—0188—03

近年来,随着植物分子生物学的飞速发展,生物技术为培育高抗、高产、优良的新品种提供了科学的手段,为育种、病虫害防治及品种改良做出了巨大的贡献,在基础研究和生产实践上都具有十分重要的意义。转基因植物已成为国内外基因工程领域的研究热点之一,大多数用于研究的植物种类多为番茄、马铃薯、胡萝卜、生菜、大白菜、黄瓜等。

胡萝卜(*Daucus carota* L.)作为一种组织培养研究中的经典材料,一种重要的世界性蔬菜,因其非常适于作为农杆菌转化系统的转基因受体以及其在肉质根中具有高水平稳定的可溶性蛋白表达量,具有良好的组织培养和遗传转化基础,成为了大多数转基因植物研究的选择品种。

**第一作者简介:**朱晓艳(1986-),女,吉林珲春人,硕士,研究方向为植物分子生物学研究。

**责任作者:**于丽杰(1961-),女,黑龙江齐齐哈尔人,博士,教授,现主要从事分子生物学等研究工作。

**基金项目:**黑龙江省自然科学基金资助项目(C0014);黑龙江省普通高等学校骨干教师创新能力计划资助项目。

**收稿日期:**2011-11-09

## 1 胡萝卜作为生物反应器的研究

应用基因工程植物系统作为生物反应器生产人类所需的各种疫苗、抗体、蛋白质或多肽等药物是 20 世纪 90 年代国际上新兴的一个重要领域,构成分子农业的主体。随着转基因技术的不断成熟。近年来,植物生物反应器的种类逐渐增多,如马铃薯、西红柿、烟草、拟南芥、芜菁、油菜、胡萝卜等,表达产物包括抗体、疫苗及其片段、酶、细胞因子以及其它生物活性肽和药用蛋白等<sup>[1]</sup>。利用植物生物反应器,尤其是以胡萝卜为材料表达外源蛋白获得了突破性的进展,其主要通过根癌农杆菌介导法以及基因枪法对胡萝卜进行遗传转化,采取的外植体类型包括子叶、下胚轴、肉质根等。目前,已有多种利用外源基因成功转化的胡萝卜。

自 1988 年比利时 PGS 公司在烟草中研制出一种神经肽,随后 1989 年美国 Serippe 研究所将抗体的重链和轻链基因分别克隆并转入烟草中,然后使 2 种转基因烟草杂交,在子代烟草叶片中产生了大量的抗体蛋白<sup>[2]</sup>,开创了利用转基因植物生产药用蛋白的新时代。世界范围内已有多种药用蛋白和多肽在胡萝卜植株中得到成功表达。

## The Lipid and Pigment Molecules of Photosynthetic Membrane Protein Complexes

Ji Jie<sup>1</sup>, CHU Jia-chen<sup>2</sup>, FAN Pei<sup>1</sup>, HUA Chun<sup>2</sup>, CHEN Quan-zhan<sup>2</sup>, ZHOU Feng<sup>2</sup>, ZHOU Quan-cheng<sup>2</sup>

(1. School of Xingzhi, Xiaozhuang University, Nanjing, Jiangsu 211171; 2. School of Biochemical and Environmental Engineering, Xiaozhuang University, Nanjing, Jiangsu 211171)

**Abstract:** The composition and function of lipid and pigment molecules in plant thylakoid membrane proteins were introduced. PSII monomer contained 25 lipid molecules and 35 chlorophyll a molecules; Cyt b<sub>6</sub>f contained 3 lipid molecules, 1 chlorophyll a molecule and 1 carotenoid molecule; PSI monomer contained 4 lipid molecules and 167 chlorophyll molecules.

**Key words:** photosynthetic membrane protein; lipid; pigment molecules

### 1.1 转基因胡萝卜在疫苗中的应用研究

随着转基因植物工程技术与医学分子生物学的融合和发展,利用转基因植物生产基因工程疫苗以其独特的可食性特色展示了其诱人的开发价值与研究<sup>[3]</sup>。赵秀英等<sup>[4]</sup>构建了 HBV 表面抗原(HBsAg)植物表达载体并在胡萝卜植株中进行表达,揭示了以植物生产疫苗具有可行性。李文健等<sup>[5]</sup>通过农杆菌的介导,以携带 O 型和 A 型口蹄疫抗原决定簇融合基因 O<sub>21</sub>-O<sub>14</sub>-A<sub>21</sub>-HBsAg 的植物表达载体转化胡萝卜愈伤组织,成功的将目的基因整合到胡萝卜基因组中并稳定表达,使免疫动物获得对口蹄疫病毒的免疫应答。李司等<sup>[6]</sup>运用农杆菌介导法将轮状病毒基因 VP7、VP6、VP4 分别转入胡萝卜中,并通过有性杂交,获得了既含有 VP7 基因又含有 VP6 基因且 VP7 蛋白和 VP6 蛋白表达量都较高的胡萝卜植株,同时建立了高效的胡萝卜遗传转化体系。

### 1.2 转基因胡萝卜在蛋白质多肽药物中的研究

降钙素是由甲状腺内的滤泡旁细胞分泌的一种 32 肽的激素,主要用于临床上治疗骨质增生、高钙血症等疾病,其生产成本低,而且数量有限<sup>[7]</sup>。张丽华等<sup>[8]</sup>用微弹轰击法对胡萝卜愈伤组织进行了降钙素基因的遗传转化,首次成功的以蔬菜作为生物反应器生产降钙素,在生物学及医学领域中具有重要的意义。

白细胞介素-2(Interleukin-2, IL-2)是人体 T 细胞被刺激诱生的细胞因子,具有重要的医疗价值,临床应用前景广阔。然而 IL-2 工程产品大多都源于动物细胞培养系统或微生物发酵,条件要求严格,生产成本低。郭芝香等<sup>[9]</sup>为提高农杆菌共培养后胡萝卜的再生频率,以 2 个品种的胡萝卜下胚轴为外植体,利用农杆菌介导法成功的将人源白细胞介素-2 基因(IL-2)导入其中,首次用植物系统表达和生产 IL-2 蛋白。

胸腺肽(Thymosin)是一种由胸腺分泌的促进淋巴细胞合成和成熟的多肽激素,对于维持免疫系统的平衡和淋巴系统的发育起重要作用<sup>[10]</sup>。张丽华等<sup>[11]</sup>通过遗传转化技术将胸腺肽基因转入胡萝卜植株中,再将胡萝卜肉质根加工成胡萝卜汁,进而可通过引用这种含有胸腺肽的胡萝卜汁达到增进健康的目的。

Luchakivskaya 等<sup>[12]</sup>通过携带有 35SCaMV 启动子和特异性根 M11 启动子驱动的烟草花叶病毒分泌钙网蛋白质干扰素融合基因转化干扰素  $\alpha$ -2b 的胡萝卜植株。结果表明,胡萝卜植株中干扰素的积累在嫩叶子中含量高达  $50.7 \times 10^3$  IU/g FW,并且大量表达的干扰素  $\alpha$ -2b 蛋白为植物学中预防和治疗传染疾病实现了重要的生物学意义。

## 2 转基因胡萝卜在其它方面的研究

### 2.1 耐盐

随着土壤盐化问题的日渐加剧,盐胁迫已经成为影

响农作物分布、生长和产量的主要限制因素之一。盐胁迫可导致植物体内离子失衡、Na<sup>+</sup> 毒害以及干旱胁迫<sup>[13]</sup>。而植物体为了防止细胞组分不受破坏,保护机体细胞维持正常代谢,往往采用积累渗透调节物质的方式来对渗透胁迫产生应答。多数植物在盐胁迫下产生应答时会积累甘氨酸甜菜碱和  $\beta$ -丙氨酸甜菜碱这 2 种胺类化合物。有些农作物如棉花、甜菜以及多数耐干旱和耐盐的野生植物中都存有甘氨酸甜菜碱<sup>[14]</sup>,而对于多数盐敏感型农作物来说并不存有甘氨酸甜菜碱或一些其它的渗透调节剂物质。胡萝卜属于盐敏感型植物,高浓度 NaCl 胁迫下显著抑制胡萝卜种子发芽,而低浓度(50 mM)NaCl 胁迫下,对大多数胡萝卜种子萌发具有抑制作用<sup>[15]</sup>。因此可以通过基因工程的方法实现胡萝卜中甜菜碱的积累,从而提高胡萝卜的耐盐性。Kumar 等通过质体转化的方法使甜菜碱醛脱氢酶(BADH)基因在胡萝卜中高水平表达,获得了可在 400 mmol/L NaCl 条件下生长的转基因植物,是目前已知的转基因植物所能耐受的最高盐浓度<sup>[16]</sup>,也是利用胡萝卜非绿色外植体通过体细胞胚胎发生进行质体基因组成功转化的首例。研究还发现,由于盐胁迫导致了胡萝卜叶片气体交换,尤其是光合能力的显著下降<sup>[17]</sup>,并且胡萝卜的叶绿体基因组严格遵循母性遗传,不会通过种子和花粉导致基因漂移。因此,胡萝卜也即成为是通过甘氨酸甜菜碱生物合成途径来提高耐盐性的良好受体。

### 2.2 抗病

乳铁蛋白是一种糖蛋白,在哺乳动物和人的许多器官组织中广泛分布。它可促进人体肠道对铁的吸收及调节体内铁的平衡,广谱抗菌、抗病毒感染作用等。郑回勇<sup>[18]</sup>首次把人乳铁蛋白基因导入胡萝卜中,经分子生物学检测,证实外源基因已整合到胡萝卜基因组中且具有抗菌活性,其铁含量也得到提高。

真菌类疾病是胡萝卜田间生长和储藏的主要限制因素之一,叶面真菌类病害导致胡萝卜患叶斑病和枯萎病,造成严重损失。Jayaraj 等<sup>[19]</sup>利用根癌农杆菌介导法将大麦几丁质酶基因和小麦脂质转移蛋白基因转入胡萝卜,单基因转化株的抗病率为 40%~50%,而共转化株的抗病率则分别为 95%和 90%,大大提高了胡萝卜对叶面真菌的抵抗能力。

目前,已有多种 PR 蛋白质在胡萝卜中表达,包括:几丁质酶、植物甜蛋白类蛋白质、葡聚糖酶、溶菌酶、逆渗透蛋白和脂质转移蛋白等。

### 2.3 抗寄生

列当为 1 a 生寄生草本植物,是蔬菜生产的主要限制因素之一,可感染多种经济作物的根。当寄主植株出现时即可萌发,并且种子存活时间长达 15~20 a,所以对土壤进行化学药品处理以及轮作的效果均不理想。

Aviv 等<sup>[20]</sup>将突变的乙酰乳酸合成酶基因导入胡萝卜中,获得抗灭草烟的株系,同样,Slavov 等<sup>[21]</sup>将突变的乙酰羟基酸合成酶基因转入番茄中获得抗除草剂转基因株系,用氯磺隆处理后列当死亡,而番茄植株仍能正常生长。

### 3 展望

以胡萝卜作为植物材料进行基因工程领域的研究表明,胡萝卜作为外植体在遗传转化上有一定的优越性,这种优越性体现在以胡萝卜为代表的植物体与微生物及动物相比,一是生产成本较低,易于大规模工业生产。二是植物细胞具有全能性,易于获得再生植株,遗传操作相对简单,且培养周期较短。三是转基因植物通过自交得到的后代遗传性状稳定,可在植物体内积累多基因<sup>[22]</sup>。四是产物贮藏在种子、果实和块茎中,便于贮运。五是无毒副作用,安全性好,由于植物体只表达病原菌的部分免疫蛋白,不含致病微生物或潜在的致病微生物,大大提高了表达产物的生物安全性<sup>[23]</sup>。

所有的这些研究表明植物生物反应器表达系统的研究令人鼓舞,但作为一个表达系统,植物系统还有许多问题有待解决,仍处于发展阶段,但前景可观。随着人类基因组计划研究的深入,相信会发现更多医疗价值的蛋白质。

### 参考文献

- [1] 凌华,黄惠琴,鲍时翔.植物生物反应器研究进展[J].中国生物工程杂志,2002,22(5):21-26.
- [2] 康杰芳,王喆之.转基因植物生产药用蛋白的研究进展[J].现代生物医学进展,2006,6(9):73-76.
- [3] 任雪艳,陈创夫,孔庆军,等.转基因植物基因工程疫苗的研究进展[J].草食家畜,2004,12(4):24-26.
- [4] 赵秀英,张晓东,张霆,等.乙肝病毒表面抗原基因在胡萝卜中的克隆及表达[J].微生物学免疫学进展,2002,30(1):1-3.
- [5] 李文建,沈明山,李春江,等.口蹄疫抗原决定簇融合基因转化胡萝卜的研究[J].厦门大学学报,2005,44:154-157.
- [6] 李司.人源轮状病毒基因在胡萝卜中的表达[J].甘肃农业大学学报,2006,10(5):40-44.
- [7] 詹志伟.降钙素与原发性骨质疏松症[J].国外医学·内分泌分册,

- 1996,16(2):67.
- [8] 张丽华,程智慧,陈杭,等.降钙素基因对胡萝卜的遗传转化[J].生物技术通讯,2005(5):512-514.
- [9] 郭芝香. IL-2 转胡萝卜体系的优化及其表达研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨师范大学,2008:50-55.
- [10] Li J P. Research of thymosin and its preparation [J]. Amino Acid and Biological Resources,1999,21(4):29-33.
- [11] 张丽华,程智慧. 胸腺肽基因对胡萝卜的遗传转化[J]. 农业生物技术学报,2006,14(4):639-640.
- [12] Luchakivskaya O Y, Kishchenko I, Gerasymenko Z, et al. High-level expression of human interferon alpha-2b in transgenic carrot (*Daucus carota* L.) plants [J]. Plant Cell Rep,2011,30:407-415.
- [13] Nishimura N, Zhang J, Abo M, et al. Application of capillary electrophoresis to the simultaneous determination of betaines in plants [J]. Anal Sci, 2001,17:103-106.
- [14] 陈源阔,崔世茂,赵彦,等. NaCl 胁迫对不同地域胡萝卜种子萌发特性的影响[J]. 内蒙古农业大学学报,2010,31(3):91-94.
- [15] Ward J M, Hirschi K D, Sze H. Plants pass the salt [J]. Trends Plant Sci,2003(8):200-201.
- [16] Kumar S, Dhingra A, Daniell H. Plastid-expressed betaine aldehyde dehydrogenase gene in carrot cultured cells, roots, and leaves confer enhanced salt tolerance [J]. Plant Physiol,2004,136(1):2843-2854.
- [17] Gibberd M R, Turner N C, Storey R. Influence of saline irrigation on growth, ion accumulation and partitioning, and leaf gas exchange of carrot (*Daucus carota* L.) [J]. Ann Bot (Lond), 2002,90:715-724.
- [18] 郑回勇. 人乳铁蛋白基因在胡萝卜中的表达及其功能研究[J]. 福建农林大学学报,2002(63):1-2.
- [19] Jayaraj J, Punja Z K. Combined expression of chitinase and lipid transfer protein genes in transgenic carrot plants enhances resistance to foliar fungal pathogens [J]. Plant Cell Rep,2007,26(9):1539-1549.
- [20] Aviv D, Amsellem Z, Gressel J. Transformation of carrots with mutant acetolactate synthase for Orobanche (broomrape) control [J]. Pest Manag Sci,2002,58(12):187-193.
- [21] Slavov S, Valkov V, Batchvarova R, et al. Chlorsulfuron resistant transgenic tobacco as a tool for broomrape control [J]. Transgenic Res,2005,14(3):273-278.
- [22] 刘常金,吴定. 植物基因工程生产药用蛋白[J]. 安徽农业技术师范学院学报,2000,14(1):51-53.
- [23] Commandeur U, Twyman R M, Fisher R, et al. The biosafety of molecular farming in plant [J]. AgBiotech Net,2003(5):110-111.

## The Research Progress of Genetically Modified Carrots

ZHU Xiao-yan, YU Li-jie

(College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin, Heilongjiang 150025)

**Abstract:** Genetically modified carrots were widely studied in recent years in the molecular biology, its of great significance in basic research and production practice. The transgenic carrot salt resistance, disease resistance, resistance to parasitic and carrot as biological reactor research progress were summarized in this paper, and the genetically modified carrots in other areas of development were prospected.

**Key words:** transgenic plants; carrot; research progress