

增强异源蛋白在植物体内表达的研究进展^{*}

张丽华^{1,2}, 程智慧², 李霞^{1*}

(1 北京市农林科学院 蔬菜研究中心, 北京 100089; 2 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 简述了利用植物生产异源蛋白的意义, 从改变调控元件、利用融合基因和分泌途径及异源蛋白的细胞定位几个方面综述了增强异源蛋白在植物体内表达的几种策略。

[关键词] 植物生物反应器; 异源蛋白; 增强表达

[中图分类号] Q 789

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2002)03-0142-05

近年来, 随着植物基因表达调控的深入研究, 将外源基因转入植物的技术应运而生, 这不仅使人们得以利用该技术设计改良植物的性状, 而且转基因植物可作为有效表达系统来生产许多重要重组蛋白。利用转基因植物生产重组蛋白具有廉价、安全、实用等许多优点^[1~3]。目前, 已有多种哺乳动物的蛋白或多肽在植物中得到表达^[4,5]。异源蛋白商业化生产的关键一环是提高该蛋白在宿主生物中的产量。这可以通过以下几个方面来提高外源蛋白在植物体内的表达: 1) 通过改变调控元件或附加一些调控元件构建表达载体, 提高外源蛋白的表达量; 2) 用融合基因来生产外源蛋白; 3) 利用分泌途径来提高外源基因的表达; 4) 通过重组蛋白的细胞定位来提高外源蛋白的表达量。

1 改变调控元件或附加一些调控元件

将外源基因与植物的特异蛋白基因及其调控序列连接, 使重组蛋白在植物中的表达具有器官或组织特异性, 可大大提高外源蛋白的表达量。Gijs 等^[6]将葡糖醛酸酶(glucuronidase, 简称 GUS) 基因与油质蛋白前 800 bp 的核苷酸序列连接, 插入根癌农杆菌的双元载体 pCGN 1559 中, 融合基因在芸薹中成功表达, 80% GUS 的活性分布在油体上。外源基因与植物的特异调控基因融合表达, 既提高了外源蛋白的表达量, 又简化了蛋白的提取纯化步骤, 展示了利用植物大规模生产外源蛋白(包括生产基因工程疫苗)的诱人前景。

真核细胞有着非常复杂的结构, 高度有序, 而且

是一种动态结构。在真核细胞的细胞核中有核基质结合序列(matrix attachment region, MAR)。在转基因生物技术操作中, 将 MAR 序列置于所转基因的两侧, 构建成 MAR-gene-MAR, 可以创造一个独立的结构域。MAR 的作用一方面可以克服基因组对碱基组成不同的外来基因的识别, 另一方面可避免插入位点附近染色质的影响。许多试验都报道 MAR 能提高基因表达水平, 在用基因枪转化烟草细胞系时, 用酵母 MAR 表达提高 12 倍, 用烟草 MAR 表达提高 60 倍, 同时发现烟草 MAR 与烟草核骨架的结合能力大于酵母 MAR^[7~9]。Bode 等^[10]报道, 免疫球蛋白重链基因(IgH)增强子的 MAR 3' 有 AATAATTT 序列, 可使碱基不配对, 若将其突变成 ACTGTCTTT 或 ACTGCTTT, 基因不配对被抑制, 与核骨架的亲合力降低, Bode 等^[10]人工合成 5' TCTTTAATTTCT-AATAATTTA-GAA 3' 25 个寡核苷酸序列, 并 7 次重复连接, 共 190 bp, 此 190 bp 的序列与核骨架的结合力达 75%, 用它作两翼转基因后荧光素酶(Luc)的活性比无此序列的载体高 6 倍。

2 利用融合基因生产外源蛋白

用转基因植物生产疫苗, 有的需经纯化后使用, 有的可不经提取纯化直接作为一种食品疫苗口服使用。为了有利于植物生产疫苗的提取纯化, 人们发展了外源基因的融合表达系统, 使植物体内外源蛋白贮存于某一特异器官或组织内并从中分离目的蛋白, 这样可以简化蛋白的提取纯化过程。如将 GUS

* [收稿日期] 2001-06-22

[作者简介] 张丽华(1974-), 女, 山东东阿人, 讲师, 在读博士, 主要从事蔬菜生理及分子生物学研究。

* 通讯作者程智慧。

基因与油质蛋白融合表达, 种子中 80% 的重组蛋白结合在油体上, 这相当于重组蛋白富集了 13 倍, 分离种子中的油体并重新悬浮, 通过特异性内切酶作用将 GU S 蛋白从油体表面释放出来, 从而获得有活性的 GU S^[6]。利用该融合表达系统生产的水蛭素已成为第一个商业化产品。油脂体是植物种子中甘油三酯的贮藏场所, 由嵌含有油质蛋白的单层磷脂膜包裹而成。油质蛋白在种子中的表达水平很高, 并定位于油脂体中。把外源基因与油脂蛋白融合表达, 使外源蛋白易于分离纯化, 从而降低外源蛋白的后处理费用^[6, 11]。

3 利用分泌途径提高外源基因表达

在真核生物中大多数分泌蛋白在 N-末端都具有约 30 个氨基酸信号序列, 若为一定的细胞机制所识别, 就能引导蛋白穿过内质网膜。不同生物的信号序列在氨基酸水平上相似性不大, 但它们都有一些共同的特点, 在氨基末端都带正电荷, 分子内部都有一段疏水氨基酸, 都具有 1 个含附着位点的 C-末端。这些特点在生物体中都是较保守的^[12-14]。

Verwoerd 等^[15]研究了肌醇六磷酸酶在转基因烟草中的积累, 构建了 pMOG413 双元载体, 以 CaMV 35S 作启动子, 在 CaMV 35S 启动子和肌醇六磷酸酶基因之间有 PR-S 信号肽的基因序列。并在试验中研究了 PR-S 信号肽对肌醇六磷酸酶的分泌作用, 结果表明, 细胞间液中肌醇六磷酸酶的活性比叶子高 87 倍, 这说明 PR-S 信号肽具有分泌作用。并测定了植株移栽后 7 周内肌醇六磷酸酶的积累, 在移栽到土中的 1~5 周, 其含量逐渐上升, 在第 6 和第 7 周维持在某一水平, 这是由于烟草叶子的衰老使得肌醇六磷酸酶 mRNA 水平下降, 而肌醇六磷酸酶要抵御蛋白水解酶的降解, 所以肌醇六磷酸酶的含量维持在一个稳定水平。

带有翻译专一信号肽序列的蛋白及与内质网相关的蛋白通常分泌到质外体, 在缺乏其他运输工具或停滞信号条件下, 亚细胞定位的错误通道便是细胞间隙。如果将来源于烟草的病源相关蛋白或 PR 1a 蛋白与异源蛋白相结合, 就能将这些蛋白引导到细胞间隙。在利用植物生产重组蛋白的研究中, 研究蛋白质向质外体的分泌具有重要意义: 1) 便于研究内质网和高尔基体对多肽的加工; 2) 便于目的蛋白的提取和收获; 3) 便于研究 B i p 蛋白初生多肽结构; 4) 便于研究内质网相关的天然伴侣; 5) 蛋白质定位到质外体可以免受蛋白酶的降解。对于需要正

确折叠或糖基化的蛋白, 研究其分泌途径是很有必要的。用这种分泌系统已经验证了多种重组蛋白。最早的是利用植物来生产抗体-“植物抗体”。老鼠 6D4 单克隆抗体 Y 或 K 链的积累依赖于有功能的分泌型引导序列。Hiatt 等^[16]在试验中用老鼠的分泌型引导序列, 结果发现植物能识别并运用这种信号序列。During 等^[17]用编码鼠免疫球蛋白 B I-8 轻链和重链的 cDNA 做了类似的试验, 用来源于大麦 α -淀粉酶基因的引导序列代替 B I-8 多肽的分泌型引导序列, 结果在植物中也发现了相似的抗体, 但这种免疫球蛋白不是定位到质外体, 而是定位于内质网。随着单链抗体结合蛋白(scFv)的诞生, 人们自然会想到去验证单链抗体在植物中的表达和功能。Oven 等^[18]在烟草中成功地表达了 scFv。scFv 重组蛋白已在多种植物中得到表达, 但这些植物中的表达量都不高。Firek 等^[19]报道, 如果使用适宜的分泌型引导序列, scFv 就能在质外体积累。

Sijmons 等^[20]将人血清白蛋白(human serum albumin, 简称 HSA)嵌合基因导入土豆和烟草中。为了使此蛋白得以分泌, 在试验中使用了人的前导序列及烟草的 PR-S 信号序列, 结果表明, 在转基因植株的叶组织和悬浮培养液中, 两种信号序列都能使 HSA 分泌。对 N-末端氨基酸序列的分析表明^[20], HSA 蛋白前体的加工依赖于信号序列, 且正确加工的 HSA 也得以分泌。Sijmons 等^[20]认为信号序列有助于 HSA 的分泌。在试验中以不含信号序列的 pMOG285 作对照, 在 HSA mRNA 水平上能检测到 HSA, 但 Western 杂交后就找不到 HSA 蛋白。这可能是由于非分泌型的 HSA 不稳定造成的。重链和轻链的两个二硫键的正确形成对 scFv 的稳定性和功能是十分必要的。胞质为还原环境, 缺少内质网所具有的蛋白二硫键异构酶, 对形成有功能的 scFv 不利。如果在基因的 5 端前接上信号肽, 使之进入内质网, 情况可能会有利。这一原理有可能用于解释加入信号肽后表达量提高的原因。

在植物分泌体系的应用方面也有困难, 最明显的是糖基化问题。在植物中复杂聚糖的生产包括糖苷酶催化下甘露糖的水解以及岩藻糖和木糖等植物特有糖的添加。多聚糖通常附着在糖基化的植物蛋白上, 对多聚糖的研究表明, 这些多聚糖在植物体内通常是致免疫的。Von Schaewen 等^[21]观察到 M2 曲霉菌突变体, 该突变体阻止了带有复杂聚糖的蛋白的积累。经分离该突变体发现, 其细胞提取液缺乏 N-乙酰葡萄糖转移酶 I, 该酶是复杂聚糖合成途径中

的第一个酶。将此突变体与能表达血细胞凝集素(PHA)糖蛋白的转基因曲霉进行杂交,得到一新型植株,该植株生产的 PHA 不含聚糖,而为富含甘露糖的糖基化形式。

粘质沙雷氏杆菌的 *chiA* 基因编码一种分泌蛋白-ChiA 蛋白,Lund 等^[22]通过改变 *chiA* 基因,使其在烟草细胞中得以表达,所表达的 ChiA 蛋白附加了复杂聚糖,且在烟草细胞中能够被分泌。在 ChiA 信号序列缺失条件下,所表达的 ChiA 蛋白是不能分泌的,而在带有信号序列的条件下(不论是 PR-1b 信号序列还是 ChiA 信号序列),ChiA 蛋白都糖基化,且是分泌型的。研究还发现,PR-1b 作信号时,ChiA 的分泌量比 ChiA 信号序列下的分泌量高,这说明用 PR-1b 信号序列替换 ChiA 蛋白信号序列能增强 ChiA 蛋白在植物细胞中的分泌。

4 重组蛋白的细胞定位

植物作为生产重组蛋白的宿主最终要涉及蛋白的提取。如果将蛋白定位到某一细胞组分,蛋白的提取将容易的多。如果该细胞组分具有蛋白质稳定或易于分离等重要特点,将使生产成本大为降低。在这方面有几种亚细胞定位策略证明是有效的^[23,24],包括内质网分泌途径的各个方面及液泡膜、质外体等途径。另外,叶绿体和油体等细胞器也可以定位。

4.1 定位到蛋白体

将重组蛋白定位到蛋白体的可能性最初是由 Sengupta-Gopalan 等^[25]提出来的。他们利用农杆菌介导的方法在烟草中成功地表达了菜豆蛋白的基因组克隆,包括启动子、编码区及 3'端 1 200 bp 的编码序列。并认为该基因的表达具有种子特异性,所产生的蛋白糖基化,且定位在蛋白体上。种子是天然的贮存器官,可以长时间贮存。贮藏型的蛋白可以定位到蛋白体上。2S 白蛋白是最小的种子贮藏蛋白,由 9 和 3 ku 2 个亚基组成,2 个亚基间由二硫键相连。2S 白蛋白是高度保守的,而且有可变区,最大特点是 8 个半胱氨酸残基在数量和位置上的高度保守性,有 1 个半胱氨酸间隔区在长度和序列上是多变的。可以利用这些特点来生产一些小肽。

Vandekerckhove 等^[26]研究了来源于芸薹属的 2S 白蛋白作为重组蛋白载体的特点。Krebbes 等^[27]曾报道,拟南芥(*A. rabidopsis*)和芜菁甘蓝(*B. napus*)的 2S 白蛋白 C 末端可以被附着,从而可以作为大小亚单位的加工位点。而 Vandekerckhove 等^[26]认为,将重组蛋白附着在这些白蛋白的 C 末端

的简单做法不可能有效。经研究发现在白蛋白的某一区域其长度和序列是多变的,该位点在 2S 白蛋白的第 6 和第 7 半胱氨酸之间。Vandekerckhove 等^[26]研究出了一个能编码拟南芥 2S 白蛋白和亮氨酸-脑啡肽五肽所形成的融合蛋白的基因结构。这种基因融合体被导入拟南芥和芜菁甘蓝,且正确表达。这种重组蛋白定位在蛋白体上,并能积累,每克种子中含量达 206 nmol。用这种方法可以生产一些重组蛋白,但还有许多限制因素。向某一序列多变的封闭蛋白添加某一蛋白质常会造成额外氨基酸向肽 C-末端的附着。去除此氨基酸不仅花费高,也使过程过于复杂化。更重要的问题是大小的限制。根据预测的 2S 白蛋白固有环的大小,允许改变的最大限度为 40 个氨基酸。

Saalbach 等^[13]对巴西果 2S 白蛋白的 N-末端和 C-末端进行了不同的遗传构建,并与分泌型酵母逆转录酶融合来转化烟草,研究 2S 白蛋白的液泡定位信号。结果表明,N-末端及含有全部前导肽的前体都不能将逆转录酶定位到液泡,而包括前体最末端 20 个氨基酸在内的 C-末端能够将逆转录酶有效地定位到液泡。进一步分析表明,C-末端的氨基酸残基为 16~13 个时仍能进行定位,只是效率有所降低,当 C-末端减少至 9 个氨基酸或更短时,定位效率下降 30%,这一部分包括前导肽 C-末端的 4 个氨基酸。逆转录酶在烟草中表达后定位在液泡,当把 2S 白蛋白前体 C-末端的肽去掉时,所有的平头 2S 白蛋白都从烟草细胞中分泌出去。这表明,C-末端的肽在液泡定位中是必须的,但并不有效,必须至少加上成熟蛋白的 12 个氨基酸才能构成有效定位的完整信号。

Hoffman 等^[28]报道,15 ku 的玉米醇溶蛋白能够在烟草等异源种子中表达,且能在蛋白体上积累。Bagga 等^[29]报道玉米醇溶蛋白不仅贮存在种子中,且其定位和加工过程与菜豆蛋白等球蛋白不同。以 35S 为启动子的 β 菜豆蛋白只在种子中表达,而在叶子中没有积累,认为在叶中 β 菜豆蛋白定位到液泡中,在液泡中很快发生了转变。对叶中蛋白体上玉米醇溶蛋白积累的观察发现,玉米醇溶蛋白能够提高叶类作物的蛋白含量。

4.2 利用种子中的质体来生产重组蛋白

Van Rooijen 等^[30]对不同生物的油质素研究发现,亲脂性中心区域在进化过程中非常保守,而 N-末端和 C-末端的氨基酸序列不同。在研究中还发现,C-末端对于定位是不重要的,N-末端和亲脂中

心核含有与定位和维持油质素稳定有关的保守序列。另外,油质素不进行翻译后加工,这就有可能用目的蛋白或多肽来替换油质素中的某些氨基酸序列而不会引起定位失常。Van Rooijen 等^[30]将 β 葡糖苷酸酶与转基因芜菁甘蓝中表达的拟南芥油质素进行融合,这种融合蛋白的含量达到原有油质素含量的1/10,最终正确定位到油体上。除了内源油质素外,可以通过高速离心将油质素- β 葡糖苷酸酶融合蛋白与其他细胞组分分离。对于需要纯化的重组蛋白油质素-蛋白融合的形式是不适合的。Van Rooijen 等^[30]提出,在融合蛋白上油质素和 β 葡糖苷酸酶之间有一附着位点,该位点分布在油体外表面,且对内源蛋白酶敏感,可以根据油质素在油体上分布的理论模型来寻找附着位点。该观点经验证是正确的。

4.3 将重组蛋白定位到叶绿体

改变叶绿体的遗传和生化功能在许多方面是很重要的。叶绿体不仅是光合作用的场所,也是脂质合成的位点,同时还进行着淀粉和氨基酸代谢。负责叶绿体中功能酶的核编码基因含有1个编码转肽序列的区域,这些位点可用来引导外源多肽到质体上。Falco 等^[31]利用这种方法在堪纳诺油菜和大豆种子中生产了高水平的游离赖氨酸。

在转基因植物基因表达研究方面,GU S 是一种非常有效的报告系统,且具有通用性。将GU S 的N-末端和C-末端与外源蛋白融合后仍能保持酶活性,使得GU S 可作为定位研究中的报告酶。GU S 可以运输到植物细胞的叶绿体、线粒体及细胞核等,在这些部位具有酶活性,因此GU S 可以作为叶绿体、线

粒体及细胞核定位研究中的报告酶,而GU S 在内质网中没有酶活性,不能作为内质网定位研究的报告酶。Iturriaga 等^[32]报道,如果N-连接的糖基化发生在第358位的天冬酰胺残基上会使GU S 丧失酶活性,Farrell 等^[33]也报道,以丝氨酸替代第358位的天冬酰胺残基可以消除糖基化,但仍会使GU S 的酶活性降低60%。GU S 酶活性的改变可以作为分泌核空泡定位研究中的“报告子”。Firek 等^[19]研究了野生型GU S 和改良型GU S (GU S 的N-末端与小麦 α -淀粉酶的信号肽相融合)在内质网上的定位,结果表明,改良后的GU S 定位到内质网上后仍具有酶活性,但大多数具有酶活性的GU S 仍存在于细胞内,并没有分泌到细胞表面去。所以这种改良后的GU S 不适合作为蛋白分泌研究中的报告酶。

5 小 结

随着基因工程领域的不断发展,植物体正在成为具有重要经济价值的异源蛋白的生产体系。据统计^[34],迄今为止,已有几十种药用蛋白或多肽在植物中得到成功表达,其中包括人的细胞因子、表皮生长因子、促红细胞生成素、干扰素、生长激素单克隆抗体和可作为疫苗用的抗原蛋白等。异源蛋白在转基因植物中的表达水平最低的是人的表皮生长因子,占可溶性总蛋白的0.001%,最高的为肌醇六磷酸酶,也仅占可溶性总蛋白的14%。如何提高外源蛋白的表达量成为该蛋白能否商业化的关键。今后应该着重从蛋白的表达调控、异源蛋白的分泌及细胞定位等方面来研究如何提高目的蛋白的表达量,以便于进行商业化生产。

[参考文献]

- [1] 王捷,郭勇. 疫苗生产的新途径——转基因植物[J]. 广西植物, 1999, 19(3): 260-262
- [2] 王新国,肖成祖. 用转基因植物生产基因工程疫苗[J]. 生物工程进展, 1998, 18(1): 51-54, 50
- [3] 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
- [4] 刘涤. 转基因植物——生产药物的新型生物反应器[J]. 生物技术通报, 1999, 3: 23-27
- [5] 刘德虎. 利用转基因植物生产药用蛋白[J]. 生物技术通报, 1999, 4: 1-5
- [6] Gijs, van Rooijen J H, Moloney M M. Plant seed oil-bodies as carriers for foreign proteins[J]. *Bio/Technology*, 1995, 13: 72-77
- [7] Allen G C, Hall G E, Childs L C, et al. Scaffold attachment regions increase reporter gene expression in stably transformed plant cells[J]. *The Plant Cell*, 1993, 5: 603-613
- [8] Allen G C, Hall G E, Michalowski S, et al. High-level transgene expression in plant cells: effects of a strong scaffold attachment region from tobacco[J]. *The Plant Cell*, 1996, 8: 899-913
- [9] Spiker S, Thompson W F. Nuclear matrix attachment regions and transgene expression in plant[J]. *Plant Physiology*, 1996, 110: 15-21
- [10] Bode J, Kohwi Y, Dickinson L, et al. Biological significance of unwinding capability of nuclear matrix associating DNA[J]. *Science*, 1992, 255: 195-197
- [11] Pamenter D L, Boothe J G, van Rooijen G J H, et al. Production biologically active hirudin in plant seeds using oleosin partitioning[J]. *Plant Molecular Biology*, 1995, 29: 1167-1180
- [12] Von Heijne M. A analysis of the distribution of charged residues in the N-terminal region of signal sequence: implications for protein ex-

- port in prokaryotic and eukaryotic cells[J]. *EMBO J*, 1984, 3: 2315- 2318
- [13] Saalbach G, Rosso M, Schumann U. The vacuolar targeting signal of the 2S albumin from brazil nut resides at the C-terminal propeptide as an essential element[J]. *Plant Physiology*, 1996, 112: 975- 985
- [14] Van Rooijen G J H, Moloney M M. Structural requirements of oleosin domains for subcellular targeting to the oilbody[J]. *Plant Physiology*, 1995b, 109: 1353- 1361
- [15] Verwoerd T C, Paridon P A, Ooyen A J J. Stable accumulation of *Aspergillus niger* Phytase in transgenic tobacco leaves[J]. *Plant Physiology*, 1995, 109: 1199- 1205
- [16] Hiatt A, Cafferkey R, Bowdish K. Production of antibodies in transgenic plants[J]. *Nature*, 1989, 342: 76- 78
- [17] During K, Hippe S, Kreuzaler F, et al. Synthesis and self-assembly of a functional monoclonal antibody in transgenic *Nicotiana tabacum* [J]. *Plant Molecular Biology*, 1990, 15: 281- 293
- [18] Oven M, Gandecha A, Cockburn B, et al. Synthesis of a functional anti-phytochrome signal chain Fv protein in transgenic tobacco[J]. *Bio/Technology*, 1992, 10: 790- 794
- [19] Firek S, Whitelam G C, Draper J. Endoplasmic reticulum targeting of active modified β glucuronidase (GUS) in transgenic tobacco plants[J]. *Transgenic Research*, 1994, 3: 326- 331
- [20] Sijmons P C, Dekker B M M, Schrammeijer B, et al. Production of correctly processed human serum albumin in transgenic plants[J]. *Bio/Technology*, 1990, 8: 18- 22
- [21] Von Schaewen A, Stum A, Oneill J, et al. Isolation of a mutant *Arabidopsis* plant that lacks N-linked glycans[J]. *Plant Physiology*, 1993, 102: 1109- 1118
- [22] Lund P, Dunsmuir P. A plant signal sequence enhance the secretion of bacterial ChA in transgenic tobacco[J]. *Plant Molecular Biology*, 1992, 18: 47- 53
- [23] Moloney M M, Holbrook L A. Subcellular targeting and purification of recombinant proteins in plant production systems[J]. *Bio/Technology and Genetic Engineering Reviews*, 1997, 14: 321- 336
- [24] Goddijn O J M, Pen J. Plants as bioreactor[J]. *Elsevier Science Ltd*, 1995, 13: 379- 387.
- [25] Sengupta-Gopalan C, Reichert N C, Burkner R F, et al. Developmentally regulated expression of the bean β phaseolin gene in tobacco seeds[J]. *Proceedings of the National Academy Science USA*, 1985, 82: 3320- 3324
- [26] Vandekerckhove J, Damme J V, Lijsebettens M V. Enkephalins produced in transgenic plants using modified 2S seed storage proteins[J]. *Bio/technology*, 1989, 7(9): 929- 932
- [27] Krebbers E, Vandekerckhove J. Undercurrents production of peptides in plant seeds[J]. *Elsevier Science Ltd*, 1990, 8: 1- 3
- [28] Hoffman L M, Donaldson D D, Bookland R, et al. Synthesis and protein body deposition of maize 15 kDa in transgenic tobacco seeds[J]. *EMBO Journal*, 1987, 6: 3213- 3221
- [29] Bagga S, Adams H, Kemp J D, et al. Accumulation of 15-kilodalton zein in novel protein bodies in transgenic tobacco[J]. *Plant Physiology*, 1995, 107: 13- 23
- [30] Van Rooijen G J H, Moloney M M. Plant seed oil-bodies as carriers for foreign proteins[J]. *Bio/Technology*, 1995a, 13: 72- 77.
- [31] Falco S C, Guida T, Locke M, et al. Transgenic canola and soybean seeds with increased lysine[J]. *Bio/Technology*, 1995, 13: 577.
- [32] Iturriaga G, Leyns L, Villegas A, et al. A family of novel myb-related genes from the resurrection plant *Craterostigma plantaginum* are specifically expressed in callus and roots in response to ABA or desiccation[J]. *Plant Molecular Biology*, 1996, 32(4): 707- 716
- [33] Farrell B L, Beachy R N. Manipulation of β glucuronidase for use as a reporter in vacuolar targeting studies[J]. *Plant Molecular Biology*, 1990, 15: 821-825
- [34] Giddings G, Allison G, Brooks D, et al. Transgenic plants as factories for biopharmaceuticals[J]. *Nature Biotechnology*, 2000, 18: 1151- 1155

Advance in improving expression of foreign protein in plant

ZHANG Li-hua^{1,2}, CHENG Zhi-hui¹, LI Xia²

(1 Institute of Vegetable Science, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Science, Beijing 100089, China;

2 College of Horticulture Science, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi, 712100, China)

Abstract: The significances of using plants as bioreactors to produce pharmaceutical proteins are reviewed. Several strategies of boosting foreign protein expression in plants are discussed, including alteration of modulating elements, utilization of fusing gene and secretion pathway and the cellular location of foreign protein.

Key words: plant bioreactor; foreign protein; expression boosting