

植物病毒表达载体研究进展^[1]

杨培龙 刘德虎^[2]

(中国农业科学院生物技术研究所, 北京 100081)

摘要 利用 DNA 或 RNA 植物病毒作载体表达外源蛋白是近几年发展较快的一种新的遗传转化方式,它具有以下几个优点:表达量大,表达速度快,易于进行基因操作和接种以及适用对象广泛。已发展的四种载体构建策略包括:基因取代,基因插入,融合抗原和基因互补。植物病毒表达载体可以用于基因的重组、病毒的移动和基因功能的检测等基础性研究,也可用于商业上表达多种药用蛋白或疫苗。植物病毒表达载体的稳定性主要取决于存在同源序列而引起的基因重组。本文还对病毒载体的生物安全性进行了讨论。

关键词 植物病毒 基因表达载体 基因重组 生物安全性

1 植物病毒表达载体的发展

自从 70 年代以来,各国科学家一直致力于研究植物组织培养技术和转基因技术,希望通过特定的遗传转化和植物再生系统进行分子育种。现在应用最广泛的是农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)转化系统,即利用农杆菌不同株系中的 Ti 质粒,把目的基因整合进植物染色体^[1]。由于这一系统应用于非农杆菌寄主时遇到很多困难,人们又发展了其它的转化方法,如基因枪法和微注射法等^[2]。虽然转基因技术可以进行遗传物质的种间交换,对改变植物稳定的遗传性状非常有益,也可加速育种过程,但在商业生产或特定实验中,人们往往需要高效、瞬时表达大量的蛋白,这是农杆菌等转化系统所不能够做到的,因此,需要发展一种新的瞬时高效表达系统。

噬菌体是最先在细菌中应用的病毒载体,这些载体现在早已成为分子生物学的常用工具,例如用作外源 DNA 扩增的载体等。在动物系统中,人们也已应用了各种病毒载体进行基因治疗和大量表达外源蛋白等^[3]。自从 60 年代后期以来,人们逐渐加深了对植物病毒基因组的认识,并且在 80 年代初期提出可用植物病毒作载体表达外源蛋白^[4],至今已发展了多个植物病毒表达载体系统。

植物病毒作为瞬时表达载体的研究是随着人们

对病毒认识的不断加深而逐渐增多的。早期,人们认为植物病毒都是 RNA 病毒,而当时 RNA 病毒研究技术还很不成熟。后来,Shepherd 发现花椰菜花叶病毒(Cauliflower mosaic virus, CaMV)具有双链 DNA 基因组^[5],因而这种病毒引起了人们的注意, CaMV 被首先用于表达载体的研究^[6]。80 年代以来,许多新的基因工程技术如反转录技术、体外转录技术等迅速发展,使得对 RNA 病毒的操作变为可能。人们可以把 RNA 反转录成 cDNA,再体外转录生成侵染性 RNA。1984 年,这一技术在雀麦草花叶病毒(Brome mosaic virus, BMV)中率先实现^[7]。随后, Ahlquist 等人于 1986 年用 BMV-Russian 株系构建了两种植物载体,表达了氯霉素乙酰转移酶(CAT)基因^[8]。目前, RNA 病毒的遗传研究取得了巨大的进展, RNA 病毒与 DNA 病毒一样可以用作表达载体研究^[9,10]。

即使这样,用于构建表达载体的病毒种类仍然有限,只包括单链 DNA 病毒,如双生病毒(Geminiviruses),双链 DNA 的类逆转录病毒(Pararetroviruses),如花椰菜花叶病毒(Caulimoviruses)及正链 RNA 病毒(见表 1),而对于其它病毒,如负链 RNA 病毒(植物弹状病毒, Rhabdoviruses),双义 RNA 病毒,双链 RNA 病毒(呼肠孤病毒, Reoviruses)来说,由于较难构建其有生物活性的克隆,仍然难于进行实验。

2 植物病毒载体系统的特点

由于植物病毒本身的特性,用它作瞬时表达载

[1] 863 计划资助项目

[2] 通讯联系人

体有许多优点:第一,病毒增殖水平较高,可使伴随的外源基因有高水平表达。相对于基因遗传转化,基表达量可高达 100 多倍^[5]。第二,病毒增殖速度快,外源基因在较短的时间内(通常在接种后 1 - 2 周以内)就可达到大量的表达。第三,植物病毒基因组小,易于进行遗传修饰,而且大多数病毒可以通过机械接种感染植物,这样易于在商业上大面积操作。第四,植物病毒可以侵染许多单子叶植物,扩大了基因工程的作用范围,如玉米线条病毒(Maize streak virus,MSV)和 BMV 等。另外,植物病毒主要是利用植物细胞的遗传物质进行繁殖,可以使伴随表达的外源蛋白进行真核生物特有的修饰如翻译后加工和糖基化,这也是大肠杆菌和酵母等表达系统所不能的。

植物病毒变异率高,变异速度较快,导致病毒载体的遗传稳定性较低。另外,经过修饰的病毒仍可能具有致病性,引发植物病害。这些都是农业生产中不希望见到的。

表 1 用于不同表达载体构建策略的植物病毒组

构建策略	基因取代	基因插入	融合抗原	基因互补
植物病毒组	BROMOVIRUS	CAULIMOVIRUS	COMOVIRUS	ALFAMOVIRUS
	CAULIMOVIRUS	GEMINIVIRUS	TOBAMOVIRUS	CAULIMOVIRUS
	FUROVIRUS	POTEXVIRUS	POTEXVIRUS	DIANTHOVIRUS
	GEMINIVIRUS	POTYVIRUS	TOMBUSVIRUS	GEMINIVIRUS
	HORDEIVIRUS	TOBAMOVIRUS	POTYVIRUS	POTEXVIRUS
	POTEXVIRUS		TOBAMOVIRUS	
	TOBAMOVIRUS		TOMBUSVIRUS	
	TOBRAVIRUS			
	TOMBUSVIRUS			

3.1 基因取代(Gene Replacement)

在病毒基因组中插入外源基因可使基因组扩大,往往对病毒产生不利的影响,尤其对于一些结构对称的病毒,影响更大。为减轻基因组大小改变对病毒的影响,许多研究者采用取代原有病毒基因的方法构建载体。一种病毒在最初用于载体研究时,常采用这种方法。被取代的基因多是病毒增殖、移动、组装等生命过程中非必需的,如编码昆虫等介体传播因子的基因。许多病毒 CP 的基因有助于侵染,但仍有许多病毒通过取代 CP 基因构建载体。病毒表达载体的增殖及其在植株中的移动是其重要特征,凡涉及复制与移动的基因不能被取代。

基因取代策略在多种病毒上实验,如蕃茄金黄花叶病毒(Tomato golden mosaic virus,TGMV)、烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus, TMV)、蕃茄丛矮

3 植物病毒表达载体的构建策略

利用植物病毒构建表达载体,可以通过四种方法,即基因取代、基因插入、融合抗原及基因互补等^[11](图 1)。已有多种植物病毒被用于构建各种植物表达载体,并利用这些载体表达了多种外源蛋白(表 1,2)。

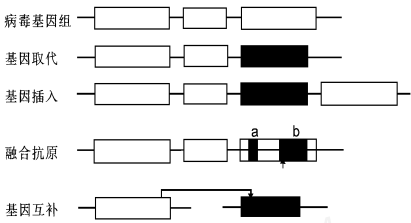


图 1 植物病毒载体不同构建策略的比较

白色框为病毒基因组,黑色部分代表外源基因
在融合抗原载体构建策略中,a 表示外源序列插入外壳蛋白基因中,b 表示外源基因在外壳蛋白基因 3 端琥珀终止密码子处通读

病毒(Tomato bushy stunt virus,TBSV)、甜菜坏死黄脉病毒(Beet necrotic yellow vein furovirus, BN YV)、非洲木薯花叶病毒(African cassava mosaic virus,ACMV)、CaMV 和 BMV 等,它们都可表达一定的外源基因。而在马铃薯 X 病毒(Potato virus X,PVX)和大麦条纹花叶病毒(Barley stripe mosaic virus,BSMV)中,取代 CP 会影响病毒复制^[12]或降低病毒移动水平^[13,14]。

3.2 基因插入(Gene Insertion)

某个基因可能在实验条件下对于病毒的侵染和增殖不是必需的,但也可能所有的基因对病毒的侵染都起一定的作用。取代策略有时会导致必要或有益的病毒内源基因的丢失,从而对病毒造成损害,因此,人们尝试把外源基因插入病毒基因组。这一策略对于杆状病毒等包装限制不十分严格的病毒更为

表 2 植物病毒载体及其表达的外源蛋白

病毒种类	构建策略	外源蛋白	载体表现	参考文献
dsDNA Viruses				
CAMV	R	二氢叶酸还原酶	R ,EL	[37]
	I	PDS	E	[38]
	R	人干扰素- D	E	[39]
	R	中国仓鼠金属硫蛋白	E	[40]
ssDNA (Gminiviruses)				
TGMV	Rcp	NPTII ,GUS ,CAT	R ,ES	[41 ,42]
ACMV	Rcp	CAT	R ,EL ,Sw	[43]
MSV	Rcp	CAT	ES ,NM ,NSw	[44]
	I	GUS ,bar	EL ,NM	[45 ,46]
WDV	Rcp	NPTII	NM	[17]
RNA Viruses				
BMV	R ,I	CAT	NM ,E ,R	[9]
	R	人干扰素-	E	[47]
BSMV	R ,I	Luciferase	R ,EL	[12]
TBSV	Rrep &csp	GUS ,CAT	R ,ES ,NM	[48]
	EP	HIV-1 抗原	E ,P ,M	[11]
PVX	R ,I	GUS	E ,M	[15]
TEV	I	replicase ,GUS	R ,E ,M	[18]
TMV	Rcp	CAT	R ,ES ,NP	[49]
	I	CAT ,NPTII	R ,E ,P ,M	[16 ,50]
	I	-天花粉蛋白	EL	[51]
	EP	Leu ^r 脑啡肽	E ,NM ,NP	[24]
	EP	ACEI	EL ,M ,P	[22]
	EP	流感病毒血凝素	P ,E ,M	[25]
		&HIV-Igp120		
	EP	疟疾抗原	Sw ,P ,E ,M	[52]
	EP	小鼠抗原	P ,M	[28]
	EP	绿色荧光蛋白	E ,M ,P	[23]
PVX	I	TMV CP	Sw ,E	[53]
PPV	EP	CPV-VP2	E ,M ,P	[20]
CPMV	EP	HRV-VP1	E ,P ,M	[19]
		HIV-gp41		
		FMDV-VP1		
	EP	MEV-VP2	E ,P ,M	[26]
说明	R :取代	CAT :氯霉素乙酰转移酶	R :复制	
	Rcp :取代 CP	GUS :葡萄糖醛酸糖苷酶	E :表达	
	基因	NPTII :新霉素磷酸转移酶	EL :大量表达	
	Rrep :取代复	CPV :犬细小病毒	ES :少量表达	
	制酶基因	FMDV :口蹄疫病毒	(N) P : (非) 颗粒	
	I :插入	HRV14 :人鼻病毒	(N) M : (不) 移动	
	EP :融合抗原	MEV :水貂肠炎病毒	Sw :野生症状	
		ACEI :血管紧张肽转化酶抑制		
		剂		

适用。

外源基因插入的位点通常选择病毒的 CP 基因启动位点之后,如 BMV^[9]、PVX^[15]、BSMV^[12]、TMV^[16]和 小麦矮缩病毒 (Wheat dwarf virus, WDV)^[17]等。而 Dolja 在烟草蚀刻病毒 (Tobacco etch virus, TEV) 基因组的 35 KDa 蛋白酶和辅助成份蛋白酶 (HC-Pro) 之间插入 GUS 基因,也获得了表达,并可保持几代稳定^[18]。

3.3 融合抗原 (Epitope presentation)

这一技术利用了植物病毒的 CP 能够与外源蛋白多肽形成融合蛋白的特点。通过在 CP 基因中选择性的插入外源基因,在不影响病毒的组装、侵染和复制的前提下,使目的肽链正好呈现在病毒粒体的表面,这种方法可以大大增强小蛋白多肽的免疫原性,弥补了小分子多肽单独作抗原时免疫原性弱的缺点。对于非抗原药物蛋白,则可以预先插入蛋白

酶切位点,表达后从植物中分离出重组病毒,用蛋白酶消化后,再获得所需的蛋白。

构建本表达载体系统可以通过两种方法(图1),一是在不干扰病毒复制和粒体组装的前提下,把外源蛋白多肽融合在CP某一特定位置点处。这种方法需要对病毒基因组及其CP结构有充分的了解,以确保选择插入的位点不影响病毒侵染特性。如豇豆花叶病毒(Cowpea mosaic virus, CPMV)^[19]和李痘病毒(Plum pox potyvirus, PPV)^[20]等。另一种方法是在CP基因与外源基因之间加入一个通读序列(context sequence, CS),通过对CP弱终止密码子的通读,产生两种蛋白:正常的CP蛋白以及CP和外源蛋白形成的融合蛋白^[21]。天然的CP执行病毒必要的包装等功能,同时也可获得需要的融合抗原蛋白。如在CP基因3'端插入病毒的复制酶通读序列构建的TMV载体^[22],利用口蹄疫病毒(Foot-and-Mouse Disease Virus, FMDV)有通读功能的2A肽序列构建的PVX载体^[23],都分别表达了外源序列。

人们已利用这一策略成功表达了多种具有免疫原性的抗原蛋白,使用的病毒包括TMV^[22,24,25]、TBSV^[11]、PPV^[20]和CPMV^[19,26]等。其中,对CPMV载体的研究与应用已经达到了较高的水平。

应用这一系统生产疫苗用蛋白具有一定的优势,暴露在病毒表面的外源蛋白多肽易被哺乳动物免疫系统识别^[27,28],病毒颗粒可以保持稳定,重组病毒可以大量快速获得,因此,可显著降低生产成本。但由于大多数植物病毒的粒体结构还不清楚,使该方法的应用范围受到一定限制。

3.4 基因互补(Gene complementation)

基因互补策略需要采用辅助系统,即把外源基因先插入到有缺陷的病毒组分或亚病毒组分中,再依靠载体以外的病毒基因、共转染的辅助病毒或病毒成份来恢复缺陷的功能(图1),有以下几种情况:

转基因互补是利用转基因植物提供辅助功能,即在构建表达载体时,需要预先把欲取代的病毒基因利用农杆菌整合进植物染色体基因组,病毒表达载体侵染转基因植物后,在植物的帮助下,可以表达外源基因。这种方法已经在一些病毒中应用,如苜蓿花叶病毒(Alfalfa mosaic virus, AMV)^[29],CaMV^[30]和TMV^[31]等。

亚病毒互补系统是利用亚病毒作为载体表达外源基因,而实现必要功能需辅助病毒的帮助。如用竹子花叶病毒(Bamboo mosaic virus, BaMV)卫星

RNA作载体表达CAT基因,当重组卫星RNA与BaMV共侵染时,CAT可大量表达^[32,33]。缺损干扰病毒的RNA(DfRNA)也可用作构建基因表达载体。在兰环斑病毒(Cymbidium ringspot virus, CyRSV)DF3 RNA中插入外源病毒的CP基因后,在辅助成份作用下有表达,但其生活力和稳定性受DfRNA的组成及插入位点的影响^[34,35]。这与在TBSV DfRNA载体中所观察到的现象相一致^[36]。

4 植物病毒表达载体的应用

4.1 研究基因重排

病毒表达载体已经应用于RNA剪接、DNA介导的重组、农杆菌T-DNA转移和甲基化等研究中^[54]。这些研究大多涉及病毒基因组的分子间或分子内重排,近期,CaMV载体(DNA)又用于研究病毒基因组与转基因间的重组^[55,56]。RNA病毒与转基因间的重组研究也已开始,如用CAT取代TBSV CP基因构建载体,侵染转TBSV-CP基因的植株时,可发生重组,使载体恢复成野生型^[57,58]。在这些工作中,人们逐渐加深了对基因重组机制、重组效率、重组动力学及外源基因丢失原因的了解,有利于在商业上对转基因植物进行风险评估。

一系列实验证明,PVX介导的外源基因表达可以被转基因植物中的共抑制现象所抑制^[59]。用PVX载体进行这方面的实验有助于了解转基因沉默机制和RNA介导的病毒抗性^[60]。

4.2 研究病毒的移动

病毒表达载体还可以用于研究病毒在植物体内的侵染过程。这包括以下几个方面:第一,研究病毒移动蛋白的功能与活性,如用BMV载体表达TMV移动蛋白基因^[61],用TMV载体表达香石竹环斑病毒(Dianthovirus)移动蛋白基因^[62],都证明了异源表达的移动蛋白具有一定的作用,可以促进不相关的病毒表达载体的移动。第二,可以研究某一病毒基因与病毒移动的关系,在TEV取代载体中表达GUS基因,可知CP与胞间移动有关^[63],而辅助成份蛋白酶(Hc-Pro)则与蚜虫的传播有关^[64]。PVX与TMV载体还曾用于探测异源的花生丛生病毒基因3、基因4的移动蛋白活性^[65]。第三,把TMV载体中的移动蛋白与GFP融合,通过GFP的表达,了解涉及病毒移动的亚细胞结构^[66]。

4.3 研究基因的表达

利用病毒表达载体,快速表达某一基因,检测其功能,可加速有益基因的筛选。例如用BNYVV基

因 N 取代 CaMV 的基因 II 后,用 CaMV 载体接种芜菁,发现引起坏死反应,而不是正常 CaMV 引起的花叶症状,这意味着基因 N 与引起坏死有关。

PVX 载体较稳定,可以机械传播至许多茄科植物,应用较为广泛。它曾用于表达真菌 *Cladosporium fulvum* 的无毒基因 *avr9*^[67],使带有 *cf9* 基因的蕃茄也能产生过敏反应,从而印证了基因对基因学说。表达来自 TBSV 的 p19 和 p22 基因^[68],可在一些寄主植物上产生类似于 TBSV 直接侵染后才能引起的枯斑反应。PVX 载体还可以用于检测一些植物基因的功能,如在蕃茄中表达对除草剂 Fenthion 敏感的 FEN 基因,可以使原先对 Fenthion 不敏感的叶片变得敏感^[69]。

4.4 商业应用

植物病毒表达载体对于植物生物学和病理学的基础研究是很有价值的。但其更重要的还在于它的商业应用,尤其是用于生产药物^[70]。开始,人们用 CaMV 或 TMV 的取代型或插入型载体表达了天花粉蛋白和人干扰素等。后来,逐渐发展了更具潜力的融合抗原表达系统,使生产更具吸引力。利用病毒表达载体已经表达和生产了多种抗原及药物蛋白(表 2)。表达的重组 CPMV 可以在实验动物体内诱发特异性抗体^[71]。在我们实验室中也已成功地构建了烟草脆裂病毒(Tobacco rattle virus, TRV)融合抗原表达载体系统,并开始着手表达狂犬病毒 G 蛋白抗原、大肠杆菌热不稳定毒素蛋白抗原和口蹄疫病毒蛋白抗原。生产的重组植物病毒对人无害,结构稳定,因此,抗原融合系统提供了一种高效、安全和便宜的疫苗生产方式。

5 植物病毒表达载体存在的问题

5.1 稳定性

植物病毒载体的一个最大的缺点在于它的稳定性差。决定其遗传稳定性的因素很多。以前,病毒 RNA 复制时的高错误率被看作植物 RNA 病毒和类逆转录病毒(Pararetroviruses,复制时通过 RNA 中间体)用作载体的主要限制因素^[72],但 Siegel 指出这种复制的不精确远没有病毒表达载体的优越性重要^[73]。后来,Drake 经计算认为,复制的错误根本不成为问题^[74]。

现在,人们普遍认为,快速的基因重组是 RNA & DNA 病毒表达载体不稳定并丢失外源基因的主要原因。这已经在许多实验中得到证实,在插入具有同源性的片段时,这一点尤为明显。

病毒蛋白的二级结构在稳定性中也起重要作用。即使修饰后的基因组与天然基因组大小相近,或包装限制问题并不严重,但若引入的外源基因对二级结构有所影响,也会影响病毒载体的稳定,例如,BSMV 外壳蛋白基因中的绝大多数位点插入外源基因都不稳定^[11]。

外源基因丢失的机制还不清楚,可能与上面提到的由病毒介导的异源或同源基因重组有关^[75,76]。因此,在构建病毒载体时,实验各种策略和各个插入位点,避免序列同源引起重组,都是必要的。

5.2 生物安全性

病毒毕竟是病原生物。尽管一些经过修饰的病毒只引起较弱的症状或根本不产生症状,但释放这些重组复制体时仍要保证不会引起植物病害的流行。

已经有人开始关注源自病毒的序列引起的安全性问题。在田间应用的抗病毒作物中,较多的是在植物中表达病毒基因组成份,尤其是 CP 基因。有人认为,在引入重组载体时,它可以与转基因植物中已经表达的异源病毒 RNA 发生重组,从植物中获得 CP 序列^[77]。考虑到许多病毒的 CP 往往与病毒扩散和介体传播有关,有可能导致带有新病原特征的病毒产生^[78,79]。

而另一种较为乐观的看法认为,转基因植株中发生的重组事件在机制上与非转基因植株的混合侵染的病毒没有什么不同^[80]。另外,重组病毒载体不稳定,竞争性弱于野生型病毒,这也可看作是一种生态安全性。

需要进一步的实验结果来说明这些问题。植物病毒的进化是自然界中不断进行的基因重组的结果,虽然我们了解很少,但所有病毒成份或重组的病毒释放进自然界都会加速病毒群的进化,有必要在大量释放前试验并估计一下这种加速的幅度。

6 结论

采用农杆菌还是病毒表达载体进行转基因研究主要取决于最终的目的。但许多研究机构及商业机构已从病毒载体的高效表达中受益,因此,它越来越引起人们的关注。CPMV 载体在表达小分子多肽方面应用前景较大,但从操作、接种的简便性、基因表达水平及载体的稳定性等多方面考虑,在表达较大的蛋白多肽时,杆状的单链正义 RNA 病毒,如 TMV、PVX、TEV 等可能更为适用。另外,TMV、PVX 和 PVY 等寄主较广泛,适宜于在不同的地理

区域发展。

植物病毒表达载体的应用研究还会进一步发展,如对于植物病毒学家而言,可以在病原的非寄主植物上表达病原基因,从而有可能筛选出未知而实用的抗性基因。

参考文献

- [1] Gronenborn,B. et al. ,1981 ,Nature ,294 :773 - 776.
- [5] Chapman,S N. et al. ,1997 ,Chemistry & Industry ,14 :550 - 554.
- [6] Shepherd,R J. et al. ,1968 ,Virology ,36 :150 - 152.
- [7] Shepherd,R J. et al. ,1989 ,In : The Biochemistry of Plant ed A. Marcus ,N Y ,V15 :563 - 616.
- [8] Alquist ,P. et al. ,1984 ,Proc. Natl. Acad. Sci ,USA ,81 :7066 - 7070.
- [9] French , R M. et al. ,1986 ,Science ,231 :1294 - 1297.
- [10] Boyer ,R L. et al. ,1994 ,Virology ,198 :415 - 426.
- [11] Cholthof ,H B. et al. ,1996 ,Annu ,Rev. Phytopathol. 34 :299 - 323.
- [12] Joshi ,R L. et al. ,1990 ,EMBO J. ,9 :2663 - 2669.
- [13] Angell ,S M. et al. ,1995 ,Plant J. ,7 :135 - 140.
- [14] Chapman ,S. et al. ,1992 ,Virology ,191 :223 - 230.
- [15] Chapman ,S. et a. ,1992 ,Plant J. ,2 :549 - 57.
- [16] Dawson ,W O. et al. ,1989 ,Virology ,172 :285 - 292.
- [17] Matzeit ,V. et al. ,1991 ,Plant Cell ,3 :247 - 258.
- [18] Dolja ,V V. et al. ,1992 ,Proc. Natl. Acad. Sci ,USA ,89 :10208 - 10212.
- [19] Porta ,C. et al. ,1994 ,Virology ,202 :949 - 955.
- [20] Fernandez-Fernandez ,M R. et al. ,1998 ,FEBS Letters ,427 : 229 - 235.
- (后 60 篇参考文献略,可与作者联系)

Development of Plant Virus-based Gene Vector for Expression of Foreign Proteins in Plants

Yang Peilong Liu Dehu

(Biotechnology Research Institute ,CAAS ,Beijing 100081)

Abstract The plant viruses have been genetically manipulated into various gene expression vectors which provide attractive tools for genetic transformation for expression of foreign proteins in plants. The advantages of plant viruses as autonomously replicating gene expression vectors include convenient engineering ,rapid and high level of expression as well as flexibility for wide application in various plant species ,when compared with transgenic plants. The strategies that have been investigated for foreign gene expression in various virus based vectors include gene replacement ,gene insertion ,epitope presentation and gene complementation. The plant virus vectors have not only been used in fundamental research such as movement of virus in plants ,rearrangement and phenotype effects of gene ,but also in commercial purpose to produce large amounts of valuable vaccines and medical proteins. The instability of virus vectors is mainly because of gene recombination caused by repeat of sequences ,although the mechanism is not known. The biosafety of recombinant viral vectors is also discussed.

Key words Plant virus ,Gene expression vector ,Gene recombination ,Biosafety

(上接第 42 页)

Advances of Researches on Antiviral Activities of Polysaccharides . Carrageenan and Its Antiviral Activities

Wang Changyun Guan Huashi

(Marine Drug and Food Institute ,Ocean University of Qingdao ,Qingdao 2669003)

Abstract It has been further confirmed lately that carrageenan ,a kind of natural sulfated polysaccharides from some red seaweed with many bioactivities ,has highly potent antiviral activities especially anti-HIV-1 activity. The antiviral activities of carrageenan were reviewed ,and the prospects of the clinical application of carrageenan were discussed.

Key words Carrageenan ,Antiviral activities ,Review