

成果名称：	基于MultiBac系统的chIFN协同表达和功能研究
登记日期：	2023-06-06
完成单位：	华南农业大学
完成人员：	孙京臣,冯敏,王雄,周耀红,潘永
研究起止日期：	2020-04-01至2022-03-31
主要应用行业：	农、林、牧、渔业
社会经济目标：	农林牧渔业发展
评价单位：	华南农业大学
评价日期：	2022-10-12
成果简介：	<p>一、研究背景及意义 杆状病毒表达载体系统现已流行并广泛用于在培养细胞、昆虫幼虫和蛹中生产功能性重组蛋白。家蚕Bombyx mori长期以来一直用于生产丝绸，最近也用于各种蛋白质生产，作为生物反应器。与其他表达系统相比，使用家蚕幼虫的基于家蚕核多角体病毒（BmNPV）的杆状病毒表达载体系统因其低成本、产量、安全性和易于处理而被认为是大规模生产外源蛋白的有吸引力的系统。因此，如果chIFN-λ被证明具有抗ALV-J功能，那么使用蚕生物反应器生产chIFN-λ就有可能进一步商业化。二、创新性 利用家蚕多基因表达系统和家蚕生物反应器，生产具有抗病毒活性的共表达chIFN-α、chIFN-γ、chIFN-λ重组蛋白。三、项目完成情况 根据设计的实验方案及内容，实际完成情况如下：1、通过基因工程技术获得chIFN-α、chIFN-γ和chIFN-λ干扰素蛋白的转移载体 pFBDM-egfp-BmGP64sp-chIFN-λ-His、pFBDM-egfp-BmGP64sp-chIFN-γ-His、pFBDM-egfp-polh-BmGP64sp-chIFN-γ-His-polh His-BmGP64sp-chIFN-λ-His和pUC-p10-mCherry-polh-Flag-BmGP64sp-chIFN-α-His；2、基于MultiBac表达系统，已经获得BmNPV-egfp-BmGP64sp-chIFN-λ-His、AcNPV-eGFP-polh-BmGP64sp chIFN-γ-His、AcNPV-eGFP-polh-BmGP64sp-chIFN-γ-His-polh-His-BmGP64sp-chIFN-λ-Myc和AcNPV-mCherry-BmGP64sp-chIFN-α-eGFP-BmGP64sp-chIFN-γ-BmGP64sp-chIFN-λ等重组杆状病毒；3、已经获得基于MultiBac-家蚕生物反应器成功获得大量活性稳定的chIFN-λ干扰素蛋白工艺，经纯化后检测具有生物活性，且具有显著的抗ALV-J功能。此方法可用于制备和批量生产重组chIFN-λ或其他活性蛋白；4、利用MultiBac多基因表达系统，在昆虫细胞sf9中成果表达chIFN-α、chIFN-γ和chIFN-λ蛋白，并获得chIFN-λ、共表达的chIFN-γ和chIFN-λ及共表达的chIFN-α、chIFN-γ和chIFN-λ蛋白，且都具有显著的抗VSV功能。四、所获成果及专利等 1、已发表SCI论文1篇：BmCH25H, a vertebrate ISG homolog, inhibits BmNPV infection dependent on its hydroxylase activity in Bombyx mori, insect science, SCI一区, IF=3.6；2、中文核心论文1篇：利用MultiBac系统表达有活性鸡γ干扰素及其鉴定, 蚕业科学, 北大核心)；3、申请专利1项 一种抗ALV-J鸡λ干扰素及其制备方法与应用(申请号201910395047.5)。</p>