

利用家蠶當作生物反應器 生產高價值外源蛋白

苗栗區農改場蠶蜂課 / 廖久薰、吳登楨

家蠶是有價值的經濟昆蟲之一，傳統養蠶主要作為蠶絲衣料之用，為勞力密集產業，因工資上漲，生產成本偏高，雖然台灣擁有優良的蠶種及養蠶技術，仍不具競爭優勢而日趨沒落。為尋求蠶業的第二春，必需朝生物技術方向發展，結合學術研究單位之專家及學者分工合作，以家蠶為生產工具，利用桿狀病毒表現載體 (Baculovirus expression vectors, BEVs) 生產高經濟價值的蛋白質產物，例如人類 β -干擾素、B型肝炎表面抗原及魚類生長激素等。以家蠶當作生物反應器生產外源蛋白，主要是因家蠶活體生產之蛋白產物遠高於細胞所培養，且家蠶容易飼養，發育快，蟲體大，飼養成本低。因為家蠶是屬於高等動物，利用它來生產人類或動物所需的疫苗、營養物質或是生長激素，如豬隻口蹄疫疫苗及豬瘟豬苗，均不需考慮蛋白生成時醮化修飾的問題，亦即比較具有活性，此等優勢乃是利用大腸桿菌或酵母菌生產體系所欠缺的。另外，因為核多角體病毒的寄主範圍很窄，尤其家蠶核多角體病毒的

寄主只限於家蠶蟲體，所以即使被釋放至田間，也不會寄生於其它的昆蟲或物種中，不會造成環境或生態上的污染。

一、桿狀病毒生物特性

昆蟲桿狀病毒 (Baculovirus) 是近年來非常受注目的真核細胞選殖載體，屬桿狀病毒科 (Baculoviridae)，病毒體呈桿狀，內含單一環狀去氧核糖核酸 (DNA) 基因組，此種病毒只存在於無脊椎動物體中，尤其是鱗翅目昆蟲體內。此種病毒分為包涵體及非包涵體兩個亞種。包涵體亞種有核多角體病毒和顆粒體病毒，核多角體病毒以具有多角體蛋白結晶形成的多角體，內部包埋著許多有囊膜的核衣殼為特徵。核多角體蛋白的主要功能在於提供病毒粒子在自然環境下的安定性（如抗紫外線、乾燥等），以提高病毒的傳播與存活的機率。核多角體內還含有蛋白酵素，可在pH 10.5左右之昆蟲中腸鹼性溶液內被活化，並可消化多角體蛋白，而釋放出病毒粒子，以進行複製。家蠶核多角體病毒 (*Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus,

BmNPV)可由一種常見的家蠶膿病(jaundice)的病蠶分離得到，通常家蠶幼蟲感染此病毒後，約在4、5天發病，病徵為身體腫脹、表皮易破裂，流出乳白色體液似膿汁，內含大量多角體結晶物。

當家蠶被病毒感染（約感染後20~72小時），多角體蛋白基因即開始啟動，生產多角體蛋白來包埋病毒粒子；待病蠶體內累積大量多角體分子，會自感染細胞解離釋放出，繼續下一次的感染。所以此蛋白乃是蟲與蟲之間的感染所需要，而無關乎蟲體內細胞間的擴散感染，亦即此基因並非病毒之必要基因。再者，病毒感染末期時，細胞核內所充滿的多角體蛋白之量，可達被感染細胞之所有蛋白質的10%以上，感染天數不過5天即可以製出如此大量的蛋白產物，可見其控制的基因起動子很強。因此，Maeda *et al.*(1985)首先以BmNPV銜接外來基因，生產人類 α - 干擾素 (α - interferon)，並可以得到 5×10^7 單位（約50微克）的高生產量。

二、成功事例

發展以桿狀病毒當作基因表現載體，除了因其特有的桿狀外鞘及環狀DNA組成，可方便提供實驗室內分子技術剪切操作、修飾及銜接外來的DNA片段等好處之外，主要是因其具有多角體蛋白基因 (polh)，利用它強而有力的起動子外接有用的基因，可以在短時間內大量收穫基因產

物（圖1，c.f. Maeda, 1989）。如草魚生長激素的製備、人類 β - 干擾素、B型肝炎表面抗原、水母綠螢光基因的表現、IgG2A抗體生產等，均是成功的例子。

三、目前研究概況

目前本場與中央研究院分子生物研究所合作進行利用家蠶來生產高經濟價值的外源蛋白，首先成功的將水母綠螢光蛋白基因轉殖到家蠶的核多角體病毒上，經餵食接種家蠶，顯示家蠶體及蠶繭內綠螢光蛋白的生產量高且穩定（圖2），每隻可生產達1~1.5 mg綠螢光蛋白，也發現蠶品種間綠螢光蛋白生產量差異大，目前正篩選優良的蠶品種（系），供今後大量生產其它有用的外源蛋白之用。此生產系統已建立，應用於其它高經濟價值之蛋白質生產，將極具發展潛力。

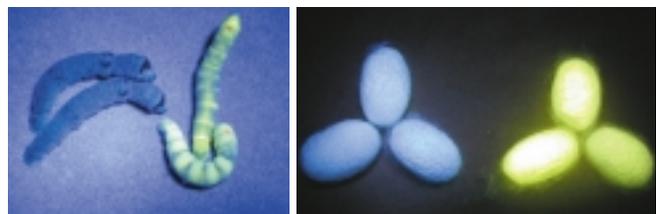
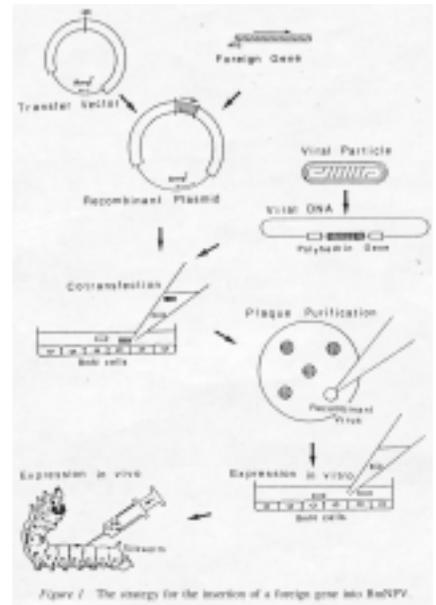


圖2 綠螢光蛋白在蠶體(左圖)及蠶繭(右圖)的表現情形。未基因工程技術改造者(左)及基因工程技術改造者(右)