

# 植物油体在生物技术中的应用研究进展

姚正颖, 张卫明, 孙力军\*

南京野生植物综合利用研究院, 南京 210042

**摘 要:** 油体是植物种子尤其是油料植物种子的重要贮脂细胞器,具有较强的物化稳定性,而且易于通过离心法分离提取。研究表明,油体是由外层的磷脂和油体结合蛋白以及包裹在内部的液态基质(主要为三酰甘油)形成的弹性球体或椭球体。目前,在植物中共发现三类油体结合蛋白,它们主要存在于油体表面。鉴于油体和油体结合蛋白的结构特殊性,二者在生物技术领域得到了广泛应用。本文重点综述了油体在表达纯化外源蛋白方面的优势、策略以及在生产药用蛋白、制备固定化酶、捕捉抗体和药用酶、生产维生素和植物抗性等多个领域的研究进展,并介绍了人工油体和油体乳化剂方面的开发应用情况。

**关键词:** 油体;油体蛋白;油体表达系统;人工油体;乳化剂

DOI: 10.3969/j.issn.2095-2341.2014.05.03

## Research Progress in Biotechnological Applications of Oil Bodies

YAO Zheng-ying, ZHANG Wei-ming, SUN Li-jun\*

Nanjing Institute for the Comprehensive Utilization of Wild Plant, Nanjing 210042, China

**Abstract:** Oil bodies are the important oil storage organelles in plant seeds, particularly in oil plant seeds. Oil bodies have strong physical and chemical stability and are easily separated by centrifugation. Studies showed that oil bodies have a spherical or ellipsoid shape and are composed of outer phospholipid, integral proteins and inner liquid matrix (mostly triacylglycerol). To date, three types of integral proteins have been found in plants and are mainly localized on the surface of oil bodies. In view of the unique structures of oil bodies and integral proteins, both of them have been widely applied in the field of biotechnology. This review summarized advantages and strategies of using oil bodies in expression and purification of recombinant proteins, as well as its applications in the fields of production of pharmaceutical protein, preparation of immobilized enzymes, affinity capture of antibodies and pharmaceutical enzymes, production of nutraceuticals, enhancement of plant resistance against pathogen. The development and applications of artificial oil bodies and oil-body-emulsifying-agents were also discussed.

**Key words:** oil bodies; oleosins; oil bodies expression system; artificial oil bodies; emulsifying agents

油体(oil bodies)是植物种子贮脂的细胞器,虽然大小和化学组分含量因植物种类而异,且与生长的营养条件 and 环境因子有关,但直径通常为 0.5~2.0 μm。推测的油体结构模型是由单分子磷脂层和嵌于其内的油体结合蛋白包裹液态基质[主要为三酰甘油(triacylglycerol, TAG)]而形成的弹性球体或椭球体,且具备显著的物理稳定性(抗机械搅拌、抗冻融等)和化学稳定性(抗氧化等),其所贮存脂类为植物种子的萌发和幼苗的

生长提供碳源和能量<sup>[1~5]</sup>。磷脂占油体表面的 80%,磷脂层的疏水酰基与内部 TAG 相互作用,头部亲水基团指向细胞液,这赋予了油体表面的亲水性<sup>[6]</sup>。

目前发现的油体结合蛋白主要分为三类:油体蛋白(oleosins)、油体固醇蛋白(steroleosins)和油体钙蛋白(caleosins),其中油体蛋白几乎覆盖了油体整个表面,是油体中含量最丰富的结构蛋白,在油体的形成至分解过程中起着非常重要的

收稿日期:2014-09-01; 接受日期:2014-09-11

基金项目:国家自然科学基金项目(31100224);江苏省自然科学基金项目(BK2011131)资助。

作者简介:姚正颖,博士,助理研究员,主要从事植物生理与资源利用研究。E-mail:belinda227@163.com。\*通信作者:孙力军,博士,副研究员,主要从事植物资源综合利用研究。E-mail:shengwudiqu@126.com

生物学作用,例如保持油体的稳定性、大小和促进油体分解等<sup>[7~9]</sup>。油体蛋白是一种疏水碱性蛋白质,相对分子量为15~26 kDa,含有三个基本结构域:两亲性的N-末端、C-末端以及中心疏水区。中心疏水区高度保守,穿过磷脂层与油体中心TAG基质相结合。N-末端和C-末端肽段位于位于油体表面与细胞质相接触,具有带负电荷的保守残基,使油体产生空间位阻和静电斥力,从而阻止油体相互接合或融合<sup>[10~12]</sup>。

油体蛋白结构的特殊性,造就了植物油体不易凝聚的特点,也增加了油体的稳定性,使得油体可以用离心的方法分离纯化<sup>[13]</sup>。另外,油体蛋白定位于油体表面,二者紧密相连,分离油体即可得到油体蛋白。基于这两个特点,油体和油体蛋白在生物技术领域得到了广泛的开发和应用。如利用油体表达、纯化及固定外源蛋白;构建人工油体,并用于包埋益生菌、香味成分等生物活性物质;将油体作为乳化剂应用于食品、药品、个人护理品以及工业产品等。本文就油体和油体蛋白在生物技术方面的相关研究和应用情况进行综述,并展望其未来的发展前景。

## 1 植物油体表达系统

### 1.1 植物油体表达系统的主要优点

植物表达系统有着动物和微生物表达系统无法比拟的优点:性状遗传稳定高;表达产物在植物细胞中能进行翻译后加工和糖基化修饰,具有与天然蛋白基本一致的免疫原性和生物活性;无病原污染问题;成本低廉,易于大规模生产等<sup>[14]</sup>。植物油体表达系统不仅可以提高重组蛋白表达量,还可以提高下游加工效率,其主要优势如下<sup>[15~19]</sup>:①重组蛋白表达量高。油体蛋白一般占种子总蛋白的2%~8%,通过基因改造,外源重组蛋白在植物中的表达量能进一步提高。②简化分离纯化融合蛋白的步骤,降低提取成本。在C-或N-末端融合了外源蛋白的油体蛋白仍然可以准确定位于油体表面,再结合油体疏水亲脂的特性,融合蛋白即可通过“悬浮-离心”的方法从转基因种子中抽提出来,经蛋白酶酶切后,目标蛋白可以从油体释放到水相。③目标蛋白稳定性好。融合蛋白与油体蛋白共同定位于植物种子的油体,在种子成熟过程中,种子含水量大大降低,抑制了水

解酶的活性,使融合蛋白在种子中可以长期稳定储存。④种子易于运输。成熟种子含水量很低,比植物其他部位更易运输,这为大规模生产目的蛋白提供了便利条件。⑤增加农产品的附加值。油体蛋白表达系统的宿主植物主要是油菜、大豆、玉米和向日葵等农作物,除去目的蛋白后的油体仍然可作为工业用油或食用油;在油体中表达具有较高营养功效的外源蛋白或多肽,不仅可以提高种子的营养成分,还可以改善种子食用品质,增加农作物附加值。

### 1.2 目的蛋白在油体上的定位及其纯化策略

**1.2.1 构建油体融合蛋白** 来自不同植物的油体蛋白具有高度保守的中心疏水区,当外源蛋白融合到油体蛋白C-末端或N-末端后,油体蛋白仍能定位于油体上,并且融合蛋白通常也能达到较高的表达水平<sup>[20]</sup>。构建油体融合蛋白的表达载体通常包括四个部分:种子特异性启动子、油体蛋白基因、位点特异性蛋白酶酶切位点和目的蛋白基因。目的蛋白与油体蛋白的N-末端或C-末端融合,在油体蛋白启动子或其他种子特异性启动子(如油菜 *napin* 基因<sup>[21]</sup>、菜豆  $\beta$ -phaseolin 编码基因启动子<sup>[22]</sup>和花椰菜病毒启动子 CaMV35S<sup>[23]</sup>等)的控制下表达,表达产物能在油体中正确转录、翻译和定位。蛋白酶酶切位点可以是凝血酶、Xa 因子、胰蛋白酶和肠蛋白酶等对应的作用位点<sup>[22]</sup>,甚至可以是蛋白内含肽<sup>[24]</sup>。油体蛋白表达系统的宿主植物有广泛的选择,从模式植物拟南芥到种子含油量高的农作物如玉米、油菜和棉花等,只要遗传转化系统成熟,都可以作为油体蛋白表达系统的宿主植物<sup>[25]</sup>。若需要分离目的蛋白,则需将种子磨碎,用缓冲液抽提,再经离心处理,最后回收上层油相,随后利用蛋白酶作用于目的蛋白与油体蛋白之间的酶切位点,最终得到目的蛋白。如果目的蛋白是某种酶,则外表载有酶的油体可直接用作固定化酶,而且这种固定化酶可以重复使用2~3次,仍保持较强的酶活<sup>[14,22]</sup>。

**1.2.2 构建亲和和标签配体** 通过构建亲和和标签配体可将外源蛋白定位于油体中,主要有以下三种方式<sup>[26]</sup>:①将配体与外源蛋白融合表达,该配体可与油体或油体蛋白亲和连接;②将配体与油体蛋白融合表达,该配体能与外源蛋白亲和连接;③构建能与油体蛋白和外源蛋白特异结合的双亲和配体。配体及其亲和连接的目标蛋白有蛋白

A/免疫球蛋白、水蛭素/凝血酶等<sup>[27]</sup>。外源蛋白可以在其他表达系统中大量表达,并利用亲和标签配体吸附定位于油体中,因此外源蛋白不会受油体蛋白表达量的限制,较构建油体融合蛋白方法有着更高的回收率,且大大简化了外源蛋白的富集和纯化过程<sup>[26,28]</sup>。

## 2 植物油体表达系统的应用

### 2.1 生产药用蛋白

**2.1.1 胰岛素** 胰岛素不仅可以有效治疗 I 型糖尿病,而且对 II 型糖尿病也有较好的治疗效果。利用油体表达系统生产胰岛素是获取大量胰岛素产品的有效途径之一。Nykiforuk 等<sup>[22]</sup>在拟南芥的油体表面表达了由胰蛋白酶裂解前肽所连接的人胰岛素前体(Des-B<sub>30</sub>)和油体蛋白的融合蛋白,分子量 34.2 kDa,经胰蛋白酶酶切后产生成熟胰岛素,表达量为种子总蛋白的 0.13%,经纯化后的 Des-B<sub>30</sub>与人胰岛素和罗氏胰岛素有着相同的功效。

Markley 等<sup>[28]</sup>构建了含有胰岛素 Des-B<sub>30</sub> 基因、胰蛋白酶切位点、KDEL 内质网滞留信号肽序列和油体蛋白亲和和标签序列的植物表达载体,实现了重组融合蛋白在拟南芥内质网中的外源表达。重组胰岛素通过亲和和标签与油体中油体蛋白的特异结合得以分离纯化,表达量达种子总蛋白的 1.15%。加拿大 SemBioSys 生物技术公司利用红花种子表达生产的重组人胰岛素已进入 III 期临床研究<sup>[29]</sup>。

**2.1.2 表皮生长因子** 表皮生长因子是脊椎动物细胞特别是表皮细胞、成纤维细胞和内皮细胞中具有促有丝分裂活性的多肽,可用于抑制胃酸分泌、伤口愈合、角膜移植和治疗胃溃疡等,在医药、化妆品和畜牧业领域用途很广<sup>[30]</sup>。利用油体表达系统是表达生产表皮生长因子有效的手段,与从人类尿液、唾液、眼泪、牛奶和血浆中直接提取以及用微生物表达系统表达生产相比,具有更高的产量。由凝乳酶剪切因子连接的人类表皮生长因子与油体蛋白的融合蛋白在拟南芥中实现了表达,表达量为 0.12%<sup>[31]</sup>。

### 2.2 纯化抗体和药用酶

蛋白 A 是一种存在于金黄色葡萄球菌表面的受体,对抗体有很高的选择性亲和力,因此蛋白

A 柱色谱法常被用于提纯抗体等。将油体蛋白-蛋白 A 融合表达,利用油体作为天然的固相介质,在中性 pH 条件下油体表面的蛋白 A 与目标抗体结合,在油体表面可形成油体蛋白-蛋白 A-抗体复合体。而油体可以通过简单的抽提过程就可与其余杂质成分分开,最后再通过洗涤,改变 pH 条件,抗体即可从复合体上解离下来。这种优化的蛋白 A 柱色谱法是一种高效、廉价的抗体纯化方法<sup>[32,33]</sup>。

凝血酶是一种血液促凝剂,用于治疗出血性疾病,如胃肠道出血和鼻出血等。水蛭素是凝血酶的天然抑制剂,能与凝血酶的  $\alpha$  链非共价结合。因此,利用油菜表达油体蛋白-水蛭素融合蛋白,可从其转基因种子中提取油体作为亲和基质分离凝血酶<sup>[34]</sup>。

### 2.3 制备固定化酶

油体蛋白表达系统为酶的固定化提供了一个良好的基质。木聚糖酶可将木聚糖酶解为低聚糖和木糖,广泛应用于食品、酿造、生物制浆、纺织、饲料和能源工业等领域。Liu 等<sup>[35]</sup>在油菜中表达了油体蛋白和来自 *Neocallimastix patriciarum* 的木聚糖酶的融合蛋白。外源重组木聚糖酶位于油体中,可用作固定化酶使用,与天然酶一样具有相同的底物特异性、Km 值和最适反应温度,经过多次回收重复利用后仍然能保持活性。因此利用油体蛋白表达系统生产和固定化木聚糖酶有效降低了成本,具有潜在的商业价值。

### 2.4 生产营养素

油体表达系统可用于表达营养型的肽类、功能蛋白以及酶类,从而提高油料作物作为食品和饲料的营养附加值。Moloney 等<sup>[36]</sup>将油体蛋白和玉米种子贮藏蛋白在油菜中融合表达,大大增加了油菜籽粕中必需氨基酸甲硫氨酸的含量。将油体蛋白和肽类生长激素在油菜中融合表达,提高了油菜籽粕作为鱼类饲料的利用率<sup>[37]</sup>。应用表达重组木聚糖酶的油体作为牛饲料添加剂,可促进植物饲料中木聚糖半纤维素降解成更容易被瘤胃微生物利用的可溶性糖类。肌醇六磷酸酶,又称植酸酶,可以将植物种子饲料中的肌醇六磷酸盐转化成单胃动物能吸收的磷酸盐。利用油体表达系统在油菜中表达油体蛋白-胶原酶-植酸酶复合体,表达的胶原酶可将植酸酶酶切下来,含有

植酸酶的油菜种子可用于生产易吸收又环保的饲料<sup>[38]</sup>。

## 2.5 提高植物的抗病性

油体蛋白-连接蛋白-植物抗病性多肽融合蛋白能在种子的发育过程中不断聚集表达,连接蛋白能在种子萌发的某一特定阶段被切割从而使抗病性多肽在发芽过程中被切离,使幼苗获得病原抗性。抗病性多肽如胰蛋白酶抑制剂和几丁质酶等,通过胶原蛋白与油体蛋白相连,胶原酶在种子发芽特定启动子的驱动下诱导表达,作用于胶原蛋白从而释放出抗病性多肽<sup>[38]</sup>。除了通过表达外源抗病因子外,油体自身存在的蛋白也发挥了提高植物抗病性的作用。比如,在植物遭受病原真菌侵染时,油体上的蛋白可以催化产生植物防御素。油体表面上的油体钙蛋白和阿尔法双加氧酶可以共同催化植物防御素的产生,抵御植物病原真菌炭疽病菌的侵染<sup>[39]</sup>。

## 3 人工油体的应用

人工油体是在体外将主要成分 TAG、磷脂和油体蛋白按一定比例混合,重新组合而成的稳定油体。通过改变各成分比例和油体蛋白的类型可以调控人工油体大小、结构和热稳定性<sup>[40~42]</sup>。简单的工艺流程如下:首先构建重组油体蛋白-目标蛋白表达载体,然后在大肠杆菌中以包涵体的形式高效表达重组融合蛋白;再将菌体破碎,离心后收集沉淀,最后将其与磷脂和 TAG 重组成人工油体。

人工油体与微生物表达系统结合可成为高效的蛋白表达纯化系统<sup>[43~45]</sup>。通过构建人工油体,只需简单一步即可实现纯化、固定化和复性三个目标,不需要像传统方法一样加入变性剂使蛋白质变性后吸附于固体基质、去除过量变性剂后再使蛋白复性,从而降低了重组蛋白的生产成本<sup>[24]</sup>。重组蛋白一端的油体蛋白嵌于磷脂分子层中,而另一端目标蛋白展现于油体表面,并可自发复性。人工油体通过离心回收油相获得纯化,固定在人工油体上目标蛋白可以直接使用,或将人工油体经蛋白酶处理使目标蛋白从融合蛋白中分离后使用<sup>[24,42,44,46]</sup>。目前人们已利用该方法固定化了重组纤维素酶,并分离纯化了 GFP 蛋白、海因酶、纳豆激酶、半胱氨酸蛋白酶抑制剂和

王浆素等<sup>[24,44,47~49]</sup>。应用人工油体技术表达纯化蛋白,需要用蛋白酶酶切油体蛋白-目的蛋白复合物,从而分离纯化目的蛋白。然而,蛋白酶的价格较昂贵,以至于成为限制人工油体技术广泛应用的主要因素。对此,一些学者利用自剪切蛋白内含肽取代蛋白酶,希望借此降低目的蛋白的纯化成本,使人工油体技术真正成为一种既高效又价廉的蛋白表达、纯化技术<sup>[24,42,45]</sup>。

人工油体可应用于食品工业,通过包埋活性营养物质(如益生菌等),增加食品营养价值。目前芝麻油体已被用于包埋保加利亚乳酸杆菌,使得乳酸菌能抵抗人体胃肠道的恶劣环境在结肠中定殖存活。其具体过程是通过加热已纯化的芝麻油体,使其热解离,再将其与乳酸菌活菌和烹饪油一起组成人工油体。模拟人体消化系统,构建 pH 2 并添加胆汁盐的试验体系,将该体系用于检测保加利亚乳酸杆菌的存活率。试验表明,用人工油体包埋的保加利亚乳酸杆菌与未包埋的相比,存活率提高了近 10 万倍<sup>[50]</sup>。

人工油体可被开发成运输疏水性生物活性物质的载体。姜黄素是天然疏水性多酚,具有抗氧化、抗炎和抗癌的作用,但因其难溶于水、生物药效率低、组织吸收率差和在碱性条件下易降解等缺陷限制了其利用。通过将姜黄素包埋进人工油体的 TAG 内部,姜黄素的稳定性有所提高且与游离姜黄素抑制癌细胞活力具有药物等效性<sup>[51]</sup>。

人工油体还可用于研究各种结构修饰对油体蛋白的影响,省去了繁琐的植物转基因操作。Peng 等<sup>[40]</sup>利用人工油体系统发现芝麻油体蛋白疏水中心结构域的氨基酸残基数保持原来的一半以上仍能天然油体蛋白一样维持油体的稳定性,否则油体将发生聚集或融合。

## 4 油体乳化剂

乳化剂是促使两种或多种不相溶的液体形成稳定乳浊液的物质。油体的不聚合性和两亲性使其成为一种理想的乳化剂。能否生产物化性质稳定的油体乳化剂取决于油体的纯净度。因此,从种子中提取的油体粗提物,必须经过进一步的清洗与纯化,以便获得物化性质稳定且具有较强油水吸附能力的油体<sup>[52]</sup>。除了完整的油体可作为乳化剂外,油体中丰富的油体蛋白-磷脂成分也

可以用作乳化剂<sup>[53]</sup>。相对于矿物油而言,油体乳化剂来源于可再生的、环境友好的植物资源,符合现代“源于天然”的消费理念,因而更具优势。而且有些油体乳化剂本身含有有益于身体健康的植物成分,如葵花籽油体中富含不饱和脂肪酸和维生素 E。应用油体乳化剂有其他乳化剂无可比拟的优点,因此可广泛应用于食品、药品、化妆品、饲料和个人护理品等领域。

可应用油体乳化剂的食物有酱、冰淇淋、布丁和果汁等。例如,将油体乳化剂作为起云剂用于果汁中,不但可以使果汁浓稠而且可防止固体成分沉淀。在制作冰淇淋过程中,可以添加油体乳化剂以替代价格昂贵的非脂乳固体,不仅保持了冰激凌原有口感还降低了冰激凌制作成本<sup>[54]</sup>。在药物制品中,油体可作为药物载体,产品形式有疫苗佐剂、治疗皮肤病的乳膏赋形剂等<sup>[55]</sup>。油体乳化剂也可广泛应用于个人护理品领域,如面霜、乳液、化妆品、护发品和沐浴产品等<sup>[56]</sup>。另外,油体可作为牙膏产品中香料、二氧化硅等辅助成分的载体,也可作为乳化剂用于油漆、润滑油和油墨等<sup>[51]</sup>。

## 5 展望

植物的油体和油体蛋白在生物技术领域的应用和发展已引起了人们的广泛关注。其中,植物油体表达系统被认为一个非常有潜力的表达系统,在外源蛋白提取纯化和降低生产成本方面具有明显的优势。人工油体表达纯化系统大大拓展了油体表达系统的应用,具有目的蛋白生产周期短、蛋白易于纯化等优点,其在包涵体复性、乳化剂以及固定化酶生产方面具有很好的应用前景。可以预见,未来会有更多的高附加值医用蛋白、工农业用酶通过该系统进行大规模生产。但作为一种植物生物反应器,该技术仍然受到植物生长周期长的限制。此外,有的目的蛋白只有正确地进行翻译后加工过程才能具有完整的生物学活性,如蛋白的糖基化、乙酰化和酰胺化等,需要进一步探索在宿主植物中是否有这样的机制;较大分子量的目的蛋白能否在油体表面正确定位也有待阐明。此外,外源重组蛋白产量低也是限制植物油体表达系统发展的主要因素之一。值得注意的还有植物油体用于制备人工油体和乳化剂时,需要

分离提取纯净度较高的油体,相较于化工产品,成本依然较高。因此,如何进一步降低提取油体的成本以及更深层次地解析植物油体及油体相关蛋白的结构和形成机制,将是今后油体研究的方向。

## 参考文献

- [1] Murphy D J, Hernandez-Pinzon I, Patel K. Role of lipid bodies and lipid-body proteins in seeds and other tissues [J]. *J. Plant Physiol.*, 2001, 158(4): 471-478.
- [2] Nikiforidis C V, Kiosseoglou V, Scholten E. Oil bodies: An insight on their microstructure—maize germ vs sunflower seed [J]. *Food Res. Int.*, 2013, 52(1): 136-141.
- [3] Nikiforidis C V, Karkani O A, Kiosseoglou V. Exploitation of maize germ for the preparation of a stable oil-body nanoemulsion using a combined aqueous extraction-ultrafiltration method [J]. *Food Hydrocoll.*, 2011, 25(5): 1122-1127.
- [4] Karkani O A, Nenadis N, Nikiforidis C V, *et al.* Effect of recovery methods on the oxidative and physical stability of oil body emulsions [J]. *Food Chem.*, 2013, 139(1): 640-648.
- [5] Chen B, McClements D J, Gray D A, *et al.* Physical and oxidative stability of pre-emulsified oil bodies extracted from soybeans [J]. *Food Chem.*, 2012, 132(3): 1514-1520.
- [6] Tzen J T C, Lie G C, Huang A H. Characterization of the charged components and their topology on the surface of plant seed oil bodies [J]. *J. Biol. Chem.*, 1992, 267(12): 15626-15634.
- [7] Chapman K D, Dyer J M, Mullen R T. Biogenesis and functions of lipid droplets in plants [J]. *J. Lipid Res.*, 2012, 53(2): 215-226.
- [8] David A, Yadav S, Bhatla S C. Plant oil bodies and oleosins: Structure, function and biotechnological applications [A]. In: Rehm B A. *Bionanotechnology: Biological Self-assembly and its Applications* [M]. Norfolk, UK: Caister Academic Press, 2013, 187.
- [9] Jolivet P, Acevedo F, Boulard C, *et al.* Crop seed oil bodies: From challenges in protein identification to an emerging picture of the oil body proteome [J]. *Proteomics*, 2013, 13(12-13): 1836-1849.
- [10] Huang A H. Oil bodies and oleosins in seeds [J]. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1992, 43: 177-200.
- [11] Purkrtova Z, Jolivet P, Miquel M, *et al.* Structure and function of seed lipid body associated proteins [J]. *CR Biol.*, 2008, 331(10): 746-754.
- [12] Tzen J T C, Chuang R L C, Chen J C, *et al.* Coexistence of both oleosin isoforms on the surface of seed oil bodies and their individual stabilization to the organelles [J]. *J. Biochem.*, 1998, 123(2): 318-323.
- [13] Tzen J T C. Integral proteins in plant oil bodies [J]. *ISRN Botany*, 2012, doi:10.5402/2012/173954.
- [14] 曲 勃, 李校堃, 于雅琴. 利用油体表达系统生产外源重组蛋白 [J]. *中国生物工程杂志*, 2007, 27(8): 111-115.
- [15] Moloney M M. Plant molecular farming: Using oleosin

- partitioning technology in oilseed [A]. In: Hood E E, Howard J A (eds). *Plants as Factories for Protein Production* [M]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2002, 55–75.
- [16] 丁勇, 龚秀会, 刘小烛. 植物种子生物反应器的研究 [J]. 山东林业科技, 2009, (6): 104–106.
- [17] Capuano F, Beaudoin F, Napier J A, *et al.*. Properties and exploitation of oleosins [J]. *Biotechnol. Adv.*, 2007, 25 (2): 203–206.
- [18] Bai F, Yan W, Zhang S, *et al.*. Immobilized lipase of reconstructed oil bodies and its potential application in biodiesel production [J]. *Fuel*, 2014, 128: 340–346.
- [19] Wilkin J. The effects of storage and processing on the properties of *Arachis hypogaea* (peanut) [D]. Cardiff UK: Cardiff Metropolitan University, 2013.
- [20] Capuano F, Beaudoin F, Napier J A, *et al.*. Properties and exploitation of oleosins [J]. *Biotechnol. Adv.*, 2007, 25 (2): 203–206.
- [21] Lee W S, Tzen J T C, Kridl J C, *et al.*. Maize oleosin is correctly targeted to seed oilbodies in *Brassica-napus* transformed with the maize oleosin gene [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88 (14): 6181–6185.
- [22] Nykiforuk C L, Boothe J G, Murray E W, *et al.*. Transgenic expression and recovery of biologically active recombinant human insulin from *Arabidopsis thaliana* seeds [J]. *Plant Biotechnol. J.*, 2006, 4 (1): 77–85.
- [23] Li W, Li L G, Sun X F, *et al.*. An oleosin-fusion protein driven by the CaMV35S promoter is accumulated in *Arabidopsis* (*Brassicaceae*) seeds and correctly targeted to oil bodies [J]. *Genet. Mol. Res.*, 2012, 11 (3): 2138–2146.
- [24] Chiang C J, Chen H C, Chao Y, *et al.*. Efficient system of artificial oil bodies for functional expression and purification of recombinant nattokinase in *Escherichia coli* [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53 (12): 4799–4804.
- [25] Ling H. Oleosin fusion expression systems for the production of recombinant proteins [J]. *Biologia*, 2007, 62 (2): 119–123.
- [26] Bhatla S C, Kaushik V, Yadav M K. Use of oil bodies and oleosins in recombinant protein production and other biotechnological applications [J]. *Biotechnol. Adv.*, 2010, 28 (3): 293–300.
- [27] Roberts N J, Scott R W, Tzen J T C. Recent biotechnological applications using oleosins [J]. *Open Biotechnol. J.*, 2008, 2: 13–21.
- [28] Markley N, Nykiforuk C, Boothe J, *et al.*. Producing proteins using transgenic oilbody-oleosin technology [J]. *Biopharm Int.*, 2006, 19 (6): 34.
- [29] Fischer R, Schillberg S, Hellwig S, *et al.*. GMP issues for recombinant plant-derived pharmaceutical proteins [J]. *Biotechnol. Adv.*, 2012, 30 (2): 434–439.
- [30] Hamsa P V, Kachroo P, Chattoo B B. Production and secretion of biologically active human epidermal growth factor in *Yarrowia lipolytica* [J]. *Curr. Genet.*, 1998, 33 (3): 231–237.
- [31] Moloney M M, van Rooijen G. Expression of epidermal growth factor in plant seeds [P]. United States Patent, US7091401.
- [32] Mclean M D, Chen R, Yu D, *et al.*. Purification of the therapeutic antibody trastuzumab from genetically modified plants using safflower protein A-oleosin oilbody technology [J]. *Transgenic Res.*, 2012, 21 (6): 1291–1301.
- [33] Seon J H, Szarka S, Moloney M M. A unique strategy for recovering recombinant proteins from molecular farming: Affinity capture on engineered oilbodies [J]. *J. Plant Biotechnol.*, 2002, 4 (3): 95–101.
- [34] Moloney M M, Boothe J, van Rooijen G. Oil and associated proteins as affinity matrices [P]. United States Patent, US7332587.
- [35] Liu J H, Selinger L B, Cheng K J, *et al.*. Plant seed oil-bodies as an immobilization matrix for a recombinant xylanase from the rumen fungus *Neocallimastix patriciarum* [J]. *Mol. Breeding*, 1997, 3 (6): 463–470.
- [36] Moloney M M. Oil-body proteins as carriers of high-value peptides in plants [P]. United States Patent, US5650554.
- [37] Moloney M M, Habibi H R. Expression of somatotropin in plant seeds [P]. United States Patent, US6288304.
- [38] Moloney M M, van Rooijen G. Preparation of heterologous proteins on oil bodies [P]. United State Patent, US6753167.
- [39] Shimada T L, Takano Y, Shimada T, *et al.*. Leaf oil body functions as a subcellular factory for the production of a phytoalexin in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol.*, 2014, 164 (1): 105–118.
- [40] Chen M C M, Chyan C L, Lee T T T, *et al.*. Constitution of stable artificial oil bodies with triacylglycerol phospholipid, and caleosin [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, 52 (12): 3982–3987.
- [41] Peng C C, Lee V S, Lin M Y, *et al.*. Minimizing the central hydrophobic domain in oleosin for the constitution of artificial oil bodies [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, 55 (14): 5604–5610.
- [42] Peng C C, Lin I P, Lin C K, *et al.*. Size and stability of reconstituted sesame oil bodies [J]. *Biotech. Progr.*, 2003, 19 (5): 1623–1626.
- [43] Chiang C J, Chen H C, Chao Y P, *et al.*. One-step purification of insoluble hydantoinase overproduced in *Escherichia coli* [J]. *Protein Expr. Purif.*, 2007, 52 (1): 14–18.
- [44] Hudebine L M. Production of pharmaceutical proteins by transgenic animals [J]. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 2009, 32 (2): 107–121.
- [45] Peng C C, Chen J C F, Shyu D J H, *et al.*. A system for purification of recombinant proteins in *Escherichia coli* via artificial oil bodies constituted with their oleosin-fused polypeptide [J]. *J. Biotechnol.*, 2004, 111 (1): 51–57.
- [46] Chiang C J, Chen H C, Kuo H F, *et al.*. A simple and effective method to prepare immobilized enzymes using artificial oil bodies [J]. *Enzyme Microb. Technol.*, 2006, 39 (5): 1152–1158.
- [47] Chiang C J, Chen P T, Yeh C Y, *et al.*. A useful method integrating production and immobilization of recombinant cellulose [J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2013, 97 (20): 9185–9192.
- [48] Peng C C, Shyu D J H, Chou W M, *et al.*. Method for bacterial

- expression and purification of sesame cystatin via artificial oil bodies [J]. J. Agric. Food Chem., 2004, 52(10): 3115-3119.
- [49] Tseng J M, Huang J R, Huang H C, *et al.*. Facilitative production of an antimicrobial peptide royalisin and its antibody via an artificial oil-body system [J]. Biotechnol. Progr., 2011, 27(1): 153-161.
- [50] Hou R C, Lin M Y, Wang M M C, *et al.*. Increase of viability of entrapped cells of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* in artificial sesame oil emulsions [J]. J. Dairy Sci., 2003, 86(2): 424-428.
- [51] Bettini S, Vergara D, Bonsegna S, *et al.*. Efficient stabilization of natural curcuminoids mediated by oil body encapsulation [J]. RSC Adv., 2013, 3(16): 5422-5429.
- [52] Deckers H M, van Rooijen G, Boothe J, *et al.*. Products for topical applications comprising oil bodies [P]. United States Patent, US6582710.
- [53] Harada T, Kashiara K, Nio N. Oleosin/phospholipid complex and process for producing the same [P]. World Intellectual Property Organization Patent, WO/2002/026788.
- [54] Berry M J, Cox A R, Keenan R D, *et al.*. Ice confection and its manufacturing process [P]. United States Patent, US20050037111.
- [55] Deckers H M, van Rooijen G, Boothe J, *et al.*. Immunogenic formulations comprising oil bodies [P]. United States Patent, US6761914.
- [56] Deckers H M, van Rooijen G, Boothe J, *et al.*. Oil body based personal care products [P]. United States Patent, US6183762.

## 中国生物工程学会 2014 年学术年会

放眼国际国内,生物技术迅猛发展,生物农业、生物医药、生物制造等领域产生着巨大的经济效益和社会效益,并聚集了大批的高端人才。通过生物技术来解决人类健康、粮食安全、生物能源、生物材料等多方面问题,从而实现可持续发展,已经成为社会各界的共识。为更好地推进生物技术的创新与发展,搭建生物技术各专业领域的专家特别是青年科学家的学术交流平台,中国生物工程学会定于 2014 年 11 月 7~10 日在浙江省温州市举办"中国生物工程学会 2014 年学术年会暨全国生物技术大会"。此次大会将邀请在生物技术领域具有重要影响的院士和知名专家作大会报告,届时也将有众多高水平的一线研究人员到会进行交流,会议还将颁发中国生物工程学会青年优秀论文奖。

### 一、会议组织:

主办单位:中国生物工程学会

承办单位:温州医科大学

### 二、会议时间、地点:

2014 年 11 月 7~10 日,浙江省温州市

### 三、会议主题:

医学生物技术;生物技术药物与转化医学;农业生物技术;工业生物技术;生物资源;计算生物学与生物信息学。

### 四、联系方式:

联系人:常丽娟 15801343134

电话:010-64807678

E-mail: xh@im.ac.cn