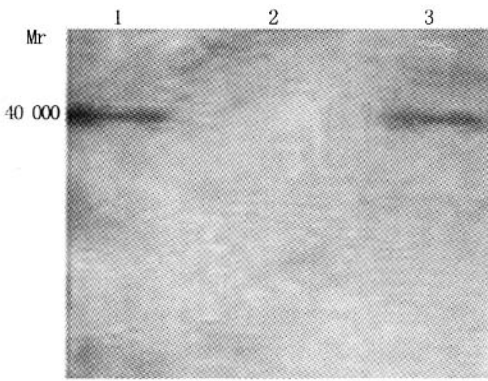


(图 5)



1: 阳性对照 Ts87 蛋白, 2: 空载体转化毕赤酵母 GS115 阳性菌株培养上清, 3: 重组质粒 P<sup>PICZ</sup><sub>αA</sub>/Ts87 转化毕赤酵母 GS115 阳性菌株培养上清。

Lane 1: Positive control Ts87 protein, Lane 2: Secreted protein in *Pichia pastoris* GS115 with P<sup>PICZ</sup><sub>αA</sub>, Lane 3: Secreted protein in *Pichia pastoris* GS115 with P<sup>PICZ</sup><sub>αA</sub>-Ts87.

图 5 表达产物的 Western blotting 结果

Fig.5 Western blotting of the expressed product

## 讨 论

毕赤酵母表达系统是近年来建立的真核表达系统, 既具有原核表达系统(如常用的大肠埃希菌表达系统)繁殖迅速、费用低廉及操作方便的特点, 又具有真核表达系统能对表达的蛋白质进行正确加工、折叠及适度糖基化的优点, 以及蛋白质易于纯化等特点, 因此被广泛用于蛋白质的大量表达<sup>[6-9]</sup>。

旋毛虫 Ts87 抗原基因是利用免疫化学筛选法从旋毛虫成虫 cDNA 文库中筛选得到的一个新基因。该基因由 1 172 bp 组成, 经 DNASTAR 核酸序列分析软件

分析结果表明: Ts87 编码的蛋白质由 347 个氨基酸组成, 存在一定的抗原表位, 含自己的分泌信号序列, 理论分子量约 Mr 40 000<sup>[1]</sup>。P<sup>PICZ</sup><sub>αA</sub> 是一个既能在酵母中表达也能在大肠埃希菌中表达的穿梭型整合载体, 该载体具有一个 α 因子分泌信号肽序列, 能够表达分泌型蛋白。本研究, 构建了 P<sup>PICZ</sup><sub>αA</sub>-Ts87 表达重组质粒, 并转化到毕赤酵母 GS115, 鉴定了阳性克隆的 Mut 表型, 进行了诱导表达。SDS-PAGE 和 Western blotting 结果表明, 培养液上清中确有外源蛋白表达。作者认为, 应进一步研究其表达条件, 提高产量, 鉴定表达产物功能, 为研究旋毛虫疫苗候选抗原奠定基础。

致谢 感谢本教研室黄松老师对本研究给予的帮助。

## 参 考 文 献

- [1] 杨雅平, 诸欣平, 杨静, 等. 旋毛虫成虫 cDNA 文库免疫筛选及序列分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2002, 20: 270-273.
- [2] 诸欣平, 杨静, 杨雅平, 等. 旋毛虫成虫抗原基因的原核表达及表达产物的特性分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2003, 21: 16-19.
- [3] Davis-Hayman SR, Nash TE. Genetic manipulation of *Giardia lamblia*[J]. Mol Biochem Parasitol, 2002, 122: 3-7.
- [4] 杨湘越, 兰小鹏, 颜宏利, 等. 毕赤酵母重组猪囊尾蚴抗原 cC1 的特征研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 2004, 20(3): 241-243.
- [5] J 萨姆布鲁克, DW 拉塞尔, 著. 分子克隆实验指南[M]. 黄培堂, 译. 第 3 版. 北京: 科学出版社, 2002. 68-92, 611-618.
- [6] Cregg JM, Cereghino JL, Shi J, et al. Recombination protein expression in *Pichia pastoris*[J]. J. Mol Biotechnol, 2000, 16: 23-52.
- [7] Cereghino JL, Cregg JM. Heterologous protein expression in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris*[J]. FEMS Microbiol Rev, 2000, 24: 45-66.
- [8] Hollenberg CP, Gellissen G. Production of recombinant proteins by methylotrophic yeasts[J]. Curr Opin Biotechnol, 1997, 8: 554-560.
- [9] 丁云菲, 刘勇, 刘红岩, 等. 分泌型乙型肝炎病毒包膜 M 蛋白在毕赤酵母中的表达[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2002, 18: 265-271.

(收稿日期: 2004-09-17 编辑: 富秀兰)

文章编号: 1000-742X(2005)04-0239-01

## 【病例报告】

### 巴基斯坦输入性间日疟一例

任宏波, 张友山, 周家善, 吴斌, 夏乐三

中图分类号: R531.31

文献标识码: B

患者, 男性, 28 岁, 工人。4 周前突发寒战、高热, 体温 40℃, 伴头昏、胸痛、乏力及全身肌肉酸痛, 予以扑热息痛、抗生素及激素治疗, 退热。近 2 周出现间歇性畏寒、发热伴头昏、胸闷, 于 2004 年 1 月 26 日入院。

患者于 2003 年 6 月~2004 年 1 月赴巴基斯坦卡拉奇市工作, 半年后返回北京。体检: 体温 40.3℃, 为典型隔天发热, 持续 2~3 h 后出汗、退热。脉搏 118 次/min, 血压 16/10 kPa (120/75 mmHg), 脾: 肋下 1.0 cm, 能触及, 质中, 无压痛。实验室检查: 血红蛋白 106 g/L, 白细胞 2.75 × 10<sup>9</sup>/L, 中性粒细胞 56.3%, 淋巴细胞 28.7%, 单核细胞 8%, 嗜酸粒细胞

0.1%, 血沉 95 mm/h, B 超示脾厚 55 mm × 长 66 mm, 脾大。外周血涂片胀大的红细胞中见各期间日疟原虫。诊断为间日疟。经氯喹(第 1 天 0.6 g, 第 2、3 天各 0.3 g)及伯氨喹(第 1~8 天, 每天 1 次口服 3 片, 共 22.5 mg)治疗 1 疗程, 体温恢复正常, 白细胞升至 7.25 × 10<sup>9</sup>/L, 出院。随访未再发热。

患者援外工作环境较恶劣, 常受蚊虫叮咬。2003 年 12 月, 同事中也有类似病症发生, 经抗疟治疗后热退。巴基斯坦地处亚热带, 全年均有疟疾流行。患者自巴基斯坦返回北京仅 10 余天即发病, 而北京近年少见疟疾, 冬季无病例报道。故本例应为巴基斯坦输入性间日疟病例。

(收稿日期: 2004-10-07 编辑: 富秀兰)