

学校编码: 10384

分类号 _____ 密级 _____

学 号:

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

农杆菌介导的口蹄疫抗原决定簇融合基因 转化苜蓿初探

Preliminary Study on Introducing FMDV Epitopes Fused Gene into Alfalfa Mediated by *Agrobacterium*

卢真

指导教师姓名: 陈亮教授

专业名称: 细胞生物学

论文提交日期: 2010年4月

论文答辩时间: 2010年6月

学位授予日期: 2010年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2010年4月

带格式的: 边框:底端: (无框线)

样式定义: 目录 1: 字体: (中文) 黑体, 四号, 不检查拼写或语法, 两端对齐, 段落间距段前: 0 磅, 段后: 0 磅, 行距: 1.5 倍行距, 制表位: 39.54 字符, 右对齐

样式定义: 目录 2: 字体: (中文) 黑体, 小四, 加粗, 不检查拼写或语法, 左 1 字符, 制表位: 39.54 字符, 右对齐

样式定义: 目录 3: 字体: 小四, 非倾斜, 不检查拼写或语法, 两端对齐, 左 2 字符, 行距: 1.5 倍行距, 制表位: 39.54 字符, 右对齐

删除的内容:

带格式的: 两端对齐, 行距: 1.5 倍行距

带格式的: 行距: 1.5 倍行距

厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文, 是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果, 均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人 (签名):

2010 年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

- 1、保密（ ），在 年解密后适用本授权书。
- 2、不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名： 日期： 年 月 日

导师签名： 日期： 年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

目录

摘要..... VIII

ABSTRACT..... IX

缩略词..... XI

1. 绪论..... 1

1.1 口蹄疫简介..... 1

1.2 疫苗生产系统的概述..... 2

 1.2.1 传统疫苗..... 2

 1.2.2 新型基因工程疫苗..... 2

1.3 转基因植物疫苗的研究概况..... 4

 1.3.1 转基因植物生产亚单位疫苗的优点..... 4

 1.3.2 转基因植物疫苗生产的一般流程..... 5

 1.3.3 植物受体的选择..... 6

 1.3.4 转基因植物疫苗的表达系统..... 7

 1.3.5 常用的植物遗传转化技术..... 8

 1.3.6 转基因植物生产疫苗的不足之处..... 10

1.4 口蹄疫转基因植物疫苗的研究概况..... 11

 1.4.1 口蹄疫抗原决定簇基因融合表达的研究概述..... 11

 1.4.2 口蹄疫转基因植物疫苗的研究进展..... 11

1.5 苜蓿遗传转化研究进展..... 12

 1.5.1 苜蓿再生体系的研究进展..... 12

 1.5.2 不同基因型的选择..... 12

 1.5.3 外植体的选择..... 13

 1.5.4 培养基的选择..... 13

 1.5.5 激素的配比..... 13

1.6 本研究的目的和意义..... 14

- 删除的内容: 农杆菌介导的口蹄疫抗原决定簇融合基因转化苜蓿初探
- 带格式的: 正文, 居中, 边框: 底端: (单实线, 自动设置, 0.5 磅 行宽)
- 删除的内容:
- 删除的内容:
- 带格式的: 字体: (中文) 黑体, 小三
- 删除的内容:
- 带格式的: 字体: 小三
- 带格式的: 标题 1, 居中, 段落间距段前: 24 磅, 段后: 24 磅, 行距: 1.5 倍行距
- 带格式的: 制表位: 不在 39.54 字符
- 域代码已更改
- 带格式的: 行距: 1.5 倍行距, 制表位: 不在 39.54 字符
- 带格式的: 字体: 小四, 小型大写字母
- 域代码已更改
- 带格式的: 字体: 小四
- 带格式的: 制表位: 不在 39.54 字符
- 域代码已更改
- 带格式的 ... [1]
- 域代码已更改
- 带格式的 ... [2]
- 域代码已更改
- 域代码已更改
- 域代码已更改
- 域代码已更改
- 域代码已更改
- 带格式的 ... [3]
- 域代码已更改
- 带格式的 ... [4]
- 域代码已更改
- 带格式的 ... [5]
- 域代码已更改
- 带格式的 ... [6]
- 域代码已更改
- 域代码已更改
- 域代码已更改
- 带格式的 ... [7]
- 域代码已更改
- 带格式的: 字体: 五号

2 材料与amp;方法15

2.1 材料 15

2.1.1 植物材料 15

2.1.2 组培试剂 15

2.1.3 质粒和菌株 15

2.1.4 主要仪器 16

2.1.5 培养基 16

2.1.6 主要溶液 17

2.2 方法 18

2.2.1 苜蓿再生系统的建立 18

2.2.2 农杆菌介导的苜蓿遗传转化系统 19

2.2.3 组织化学及分子生物学方法检测 20

3 结果与分析23

3.1 苜蓿的再生系统 23

3.1.1 苜蓿的组织培养及愈伤组织的诱导分化与生根 23

3.1.2 数据统计分析 25

3.2 农杆菌介导的苜蓿遗传转化系统 25

3.2.1 苜蓿愈伤组织对潮霉素的基础抗性测定 25

3.2.2 抗性愈伤组织的筛选及其再生植株的获得 26

3.2.3 抗性苗再生过程中的植株异型现象 28

3.3 组织化学及分子生物学方法检测 28

3.3.1 GUS 基因在转化后的愈伤组织中的表达检测 28

3.3.2 PCR 检测 29

4 讨论31

4.1 苜蓿的组织培养 31

4.1.1 基因型对苜蓿分化再生的影响 31

4.1.2 不同外植体对分化的影响 31

4.1.3 愈伤组织状态对分化的影响 31

带格式的：字体：五号

带格式的：制表位：不在 39.54 字符

带格式的：行距：1.5 倍 行距，制表位：不在 39.54 字符

带格式的：制表位：不在 39.54 字符

域代码已更改

域代码已更改

域代码已更改

域代码已更改

域代码已更改

带格式的：行距：1.5 倍 行距，制表位：不在 39.54 字符

域代码已更改

带格式的：制表位：不在 39.54 字符

域代码已更改

域代码已更改

域代码已更改

带格式的：行距：1.5 倍 行距，制表位：不在 39.54 字符

带格式的：制表位：不在 39.54 字符

域代码已更改

带格式的：行距：1.5 倍 行距，制表位：不在 39.54 字符

域代码已更改

带格式的：制表位：不在 39.54 字符

域代码已更改

域代码已更改

带格式的：行距：1.5 倍 行距，制表位：不在 39.54 字符

域代码已更改

带格式的：制表位：不在 39.54 字符

域代码已更改

域代码已更改

带格式的：行距：1.5 倍 行距，制表位：不在 39.54 字符

带格式的：制表位：不在 39.54 字符

域代码已更改

域代码已更改

带格式的：字体：五号

带格式的：居中

目录

4.1.4 培养基成分对再生苗生根的影响.....32

4.1.5 植物组织培养中褐变的发生及防止途径.....32

4.2 农杆菌介导的苜蓿转化系统.....33

4.2.1 预培养对转化效率的影响.....33

4.2.2 农杆菌感染外植体时间及共培养时间对转化效率的影响.....33

4.2.3 潮霉素对抗性再生的抑制.....33

4.2.4 抗性苗再生过程中的植株异型现象.....34

5 小结.....35

参考文献.....36

删除的内容: 农杆菌介导的口蹄疫抗原决定簇融合基因转化苜蓿初探

带格式的: 正文, 居中, 边框: 底端: (单实线, 自动设置, 0.5 磅 行宽)

删除的内容:

域代码已更改

域代码已更改

带格式的: 行距: 1.5 倍 行距, 制表位: 不在 39.54 字符

域代码已更改

带格式的: 制表位: 不在 39.54 字符

域代码已更改

域代码已更改

删除的内容: 4

域代码已更改

域代码已更改

删除的内容:

摘要 1

ABSTRACT 2

缩略词 4

1 绪论 6

1.1 口蹄疫简介 6

1.2 疫苗生产系统的概述 6

1.2.1 传统疫苗 7

1.2.2 新型基因工程疫苗 7

1.3 转基因植物疫苗的研究概况 9

1.3.1 转基因植物生产亚单位疫苗的优点 9

1.3.2 转基因植物疫苗生产的一般流程 10

1.3.3 植物受体的选择 10

1.3.4 转基因植物疫苗的表达系统 12

1.3.5 常用的植物遗传转化技术 13

1.3.6 转基因植物生产疫苗的不足之处 15

1.4 口蹄疫转基因植物疫苗的研究概况 15

1.4.1 口蹄疫抗原决定簇基因融合表达的研究概述 15

带格式的: 字体: 五号

CONTENTS

Abstract(In Chinese)..... VIII

Abstract(In English) IX

Abbreviations..... XI

1 Introduction 1

1.1 Introduction of FMD 1

1.2 Research Advance on Vaccine Producing System..... 2

1.2.1 Traditional Vaccine..... 2

1.2.2 Gene Engineering Vaccine..... 2

1.3 Research Advance on Transgene Plant Vaccine 4

1.3.1 Advantages of Transgene Plant Vaccines 4

1.3.2 General process of Transgene Plant Producing 5

1.3.3 Adoption of Plant Receptor 6

1.3.4 Expression System of Transgene Plant Vaccine..... 7

1.3.5 Technologies of Plant Genetic Transformation 8

1.3.6 Disadvantages of Transgene Plant Vaccine 10

1.4 Research Advance on FMD Transgene Plant Vaccine..... 11

1.4.1 Research Advance on Fusion Expression of FMDV Antigenic Determinan 11

1.4.2 Research Advance on FMD Transgene Plant Vaccine..... 11

1.5 Research Advance on Alfalfa Genetic Transformation 12

1.5.1 Research Advance on Alfalfa Regeneration System 12

1.5.2 Adoption of Genotype 12

1.5.3 Adoption of Explants 13

1.5.4 Adoption of Culture Medium..... 13

1.5.5 Proportion of Hormone..... 13

- 带格式的 ... [9]
- 带格式的 ... [10]
- 带格式的: 字体: 五号
- 带格式的 ... [11]
- 删除的内容:
- 带格式的 ... [12]
- 删除的内容: ABSTRACTON ... [13]
- 带格式的 ... [14]
- 删除的内容: 2
- 带格式的: 字体: 四号
- 带格式的: 默认段落字体
- 删除的内容: 4
- 带格式的: 字体: 四号
- 删除的内容: 1 ... [15]
- 带格式的: 默认段落字体
- 带格式的: 目录 1
- 带格式的: 字体: 四号
- 删除的内容: 1.1 ... [16]
- 带格式的 ... [17]
- 删除的内容: 1.2 ... [18]
- 带格式的 ... [19]
- 删除的内容: 1.2.1 ... [20]
- 带格式的 ... [21]
- 删除的内容: 1.2.2 ... [22]
- 带格式的 ... [23]
- 删除的内容: 1.3 ... [24]
- 带格式的 ... [25]
- 删除的内容: 1.3.1 ... [26]
- 带格式的 ... [27]
- 带格式的 ... [28]
- 删除的内容: 10
- 带格式的 ... [29]
- 带格式的 ... [30]
- 删除的内容: 10
- 带格式的 ... [31]
- 带格式的 ... [32]
- 删除的内容: 12
- 带格式的 ... [33]
- 带格式的 ... [34]
- 删除的内容: 12
- 带格式的 ... [35]
- 带格式的 ... [36]
- 删除的内容: 15
- 带格式的 ... [37]
- 带格式的: 字体: 小四
- 删除的内容: 15
- 带格式的 ... [38]
- 带格式的 ... [39]
- 删除的内容: ...t... 15 ... [40]
- 带格式的 ... [41]
- 带格式的 ... [42]
- 带格式的 ... [43]
- 带格式的: 字体: 小四
- 带格式的 ... [44]

CONTENTS

1.6 Purpose and Significance of the Study 14

2 Materials and Methods 15

2.1 Materials 15

2.1.1 Plant Materials 15

2.1.2 Reagents in Tissue Culture 15

2.1.3 Plasmids and Bacterial Strains 15

2.1.4 Main Instruments 16

2.1.5 Culture Medium 16

2.1.6 Solutions 17

2.2 Methods 18

2.2.1 Establishment of Alfalfa Regeneration System 18

2.2.2 Alfalfa Genetic Transformation Mediated by Agrobacterium 19

2.2.3 Histochemistry and Molecular Biology Examination 20

3 Results and Analysis 23

3.1 Alfalfa Regeneration System 23

3.1.1 Alfalfa Tissue Culture, Inducement of callus and rootage 23

3.1.2 Statistics Analysis 25

3.2 Alfalfa Genetic Transformation System Mediated by Agrobacterium 25

3.2.1 Examination of Resistance of Alfalfa Callus to Hygromycin 25

3.2.2 Filtration of Resistant Callus and Obtainment of Regeneration Plant 26

3.2.3 Abnormity of Resistant Regeneration Plant 28

3.3 Histochemistry and Molecular Biology Examination 28

3.3.1 GUS Examination on Transformed Callus 28

3.3.2 PCR Examination 29

4 Discussion 31

4.1 Alfalfa Tissue Culture 31

4.1.1 Impact of Genotype to Alfalfa Differentiation and Regeneration 31

4.1.2 Impact of Explant Types to Differentiation 31

4.1.3 Impact of Callus Status to Differentiation 31

- 删除的内容: 农杆菌介导的 [51]
- 带格式的: 正文, 居中
- 带格式的: 字体: 小四
- 删除的内容: 18
- 带格式的 [52]
- 删除的内容: 20
- 带格式的: 默认段落字体
- 带格式的: 字体: 四号
- 带格式的: 字体: 小四
- 删除的内容: 20
- 带格式的 [53]
- 带格式的 [54]
- 删除的内容: 20
- 带格式的 [55]
- 带格式的 [56]
- 删除的内容: 20
- 带格式的 [57]
- 带格式的 [58]
- 删除的内容: 20
- 带格式的 [59]
- 带格式的 [60]
- 删除的内容: 21
- 带格式的 [61]
- 带格式的 [62]
- 删除的内容: 21
- 带格式的 [63]
- 带格式的 [64]
- 删除的内容: 22
- 带格式的 [65]
- 删除的内容: 23
- 带格式的: 字体: 小四
- 带格式的 [66]
- 带格式的 [67]
- 删除的内容: 23
- 带格式的 [68]
- 带格式的 [69]
- 删除的内容: 24
- 带格式的 [70]
- 带格式的 [71]
- 删除的内容: 25
- 带格式的 [72]
- 带格式的: 默认段落字体
- 删除的内容: 28
- 带格式的: 字体: 四号
- 带格式的: 字体: 小四
- 带格式的 [73]
- 删除的内容: 28
- 带格式的 [74]
- 带格式的 [75]
- 删除的内容: 28
- 带格式的 [76]
- 带格式的 [77]
- 带格式的 [78]
- 带格式的: 字体: 小四
- 带格式的 [79]

CONTENTS

4.1.4 Impact of Culture Ingredients to Rootage of Regeneration Plants 32

4.1.5 Browning and its Prevention in Plant Tissue Culture 32

4.2 Alfalfa Transformation System Mediated by Agrobacterium 33

4.2.1 Impact of Pre-culture to Transformation 33

4.2.2 Impact of Infectious Time and Co-culture Time to Transformation 33

4.2.3 Inhibition of Hygromycin to Resistant Regeneration 33

4.2.4 Abnormity of Resistant Regeneration Plant 34

5 Summary 35

Reference 36

带格式的: 边框: 底端: (单实线, 自动设置, 0.75 磅行宽)

带格式的: 字体: 五号

删除的内容: 4.1.4 IMPACT OF CULTURE INGREDIENTS TO ROOTAGE OF REGENERATION PLANTS 39

带格式的: 字体: 小四, 非加粗

带格式的 ... [85]

删除的内容: 4.1.5 ... [86]

带格式的 ... [87]

带格式的 ... [88]

带格式的: 字体: 小四

删除的内容: 38

带格式的 ... [89]

带格式的 ... [90]

删除的内容: 38

带格式的 ... [91]

带格式的 ... [92]

删除的内容: 38

带格式的 ... [93]

带格式的 ... [94]

删除的内容: 4

删除的内容: 38

带格式的 ... [95]

带格式的 ... [96]

删除的内容: 39

带格式的 ... [97]

带格式的: 默认段落字体

删除的内容: 40

带格式的: 字体: 四号

带格式的: 默认段落字体

删除的内容: 41

带格式的: 字体: 四号

删除的内容: ACKNOWLED ... [98]

带格式的: 默认段落字体

带格式的 ... [99]

带格式的: 字体: 四号

带格式的: 字体: 五号

带格式的: 居中

带格式的

摘要

摘要

口蹄疫是由口蹄疫病毒（Foot-and-mouth disease virus, FMDV）引起的一种世界性的急性家畜传染病。其特点是传播途径广、传染性强、死亡率高。

利用转基因植物生产疫苗是目前植物基因工程领域的一个研究热点，具有生产简单、成本较低、使用安全方便、易于贮存等优点。苜蓿以“牧草之王”著称，适应性广，可以在各种地形、土壤中生长，我国目前苜蓿的种植面积约 133 万 hm^2 。苜蓿不仅产量高，而且草质优良，各种畜禽均喜食，是理想的口蹄疫转基因植物疫苗的载体植物。

本实验通过农杆菌的介导，以携带 O 型和 A 型口蹄疫抗原决定簇融合基因 O21-O14-A21-HBcAg 的植物表达载体转化苜蓿愈伤组织，并再生得到抗性植株；对转化后的愈伤组织和抗性植株进行了 GUS 基因活性组织化学染色检测，并对抗性植株进行了 PCR 检测。

所获得的试验结果如下：

1. 建立了苜蓿甘农 1 号再生系统。最佳愈伤组织诱导培养基为 B5+1.0mg/L 2,4-D+0.1mg/L KT (B5h)，分化培养基为不加任何激素的 B5 培养基，生根培养基则为蔗糖浓度为 10g/L 的 1/2MS 培养基。从愈伤组织的诱导到分化形成再生植株总共约 60—90 天。

2. 通过筛选，获得了抗性植株。建立并优化了农杆菌介导的苜蓿遗传转化系统。实验表明，预培养 4-5 天，农杆菌菌液浓度 OD_{600} 0.6—0.8，侵染时间 20min，共培养 4 天对转化有利。潮霉素和特美汀(timentin)对抗性愈伤再生能力具有明显的抑制作用。

3. GUS 组织化学染色检测和分子生物学检测结果如下：GUS 报告基因在转化的愈伤组织中表达。对抗性植株进行 PCR 检测，证实目的基因已经成功整合到苜蓿基因组中。

关键词：口蹄疫；遗传转化；苜蓿

删除的内容: 农杆菌介导的口蹄疫抗原决定簇融合基因转化苜蓿初探

带格式的: 正文, 居中, 边框: 底端: (单实线, 自动设置, 0.5 磅 行宽)

删除的内容:

删除的内容:

带格式的: 字体: Times New Roman, 小三

带格式的: 段落间距段前: 24 磅, 段后: 24 磅, 行距: 1.5 倍行距

删除的内容: 5

删除的内容: 瞬时

带格式的: 行距: 1.5 倍行距

带格式的: 字体: 五号

带格式的

Abstract

带格式的: 字体: Times New Roman, 小三

Abstract

带格式的: 段落间距段前: 24 磅, 段后: 24 磅, 行距: 1.5 倍行距

带格式的: 字体: 五号

带格式的: 边框: 底端: (单实线, 自动设置, 0.75 磅行宽)

Foot-and-mouth disease (FMD) is a world-wide infectious disease induced by foot-and-mouth disease virus (FMDV). It mainly infects the even-feet animals, and has the characteristics such as broad transmission, easy infection and high mortality.

Vaccine derived by transgenic plants is becoming one focus of plant genetic engineering. There are such advantages as easy production, low cost, convenient and safe use and easy storage. Alfalfa is widely adaptable that it can be found in all kinds of terrains and soils. At present, there is an amount of 13,300,000 hm² of alfalfa in China. Alfalfa is considered as an ideal plant of FMD transgenic plants vaccine, not only because of its high production, but also its good quality for domestic animals.

In this study, it is presented that fused gene O21-O14-A21-HBcAg containing both type O and A of FMDV epitopes were introduced into alfalfa callus mediated by *Agrobacterium*. Hygromycin-resistant alfalfa callus were obtained by the medium containing antibiotic. Hygromycin-resistant alfalfa plants were regenerated from the resistant callus. The correlative detection experiments were finished, such as, GUS expression detection in transformed callus and hygromycin-resistant alfalfa plants, PCR for hygromycin-resistant alfalfa plants.

The main experiments results were as follows:

1. Gannong NO.1, which is a cultivar of Alfalfa, regeneration system was established. Culture medium for pre-inducing alfalfa callus was B5+2,4-D 1.0mg/L + KT 0.1mg/L (B5h). Culture medium for inducing alfalfa callus was B5 medium without any phytohormone. Culture medium for rootage was 1/2MS with 10g/L sucrose. The number of dates from alfalfa callus to hygromycin-resistant alfalfa plants was 60-90 days.

删除的内容:

2. Hygromycin-resistant alfalfa plants had already been regenerated from transformed callus. We established and optimized the genetic transformation system of aifalfa mediated by *Agrobacterium*. Experiments showed that pre-inducing cultivation time at 4-5 days, *Agrobacterium* concentration reaching 0.6-0.8 at OD₆₀₀,

删除的内容: 80

删除的内容:

带格式的: 字体: 五号

带格式的: 居中

Abstract

the infect time at 20 min, and co-cultivation time at 4 days were helpful to increase transformation efficiency. Hygromycin and timentin restrained alfalfa plants regenerating from callus evidently.

3. GUS expression and molecular biology detection results were as follows: GUS reported genes were expressed in transformed callus in hygromycin-resistant alfalfa plants, and the results of PCR indicated that the O₂₁ - O₁₄ -A₂₁ -HBcAg genes were integrated into the genomes of hygromycin-resistant alfalfa plants.

Key Words: FMD; genetic transformation; alfalfa

删除的内容: 农杆菌介导的口蹄疫抗原决定簇融合基因转化苜蓿初探

带格式的: 正文, 居中

删除的内容: 5

删除的内容:

删除的内容: transitorily

删除的内容: ----分页符----

带格式的: 字体: 五号

缩略词

缩略词

2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) 2,4-二氯苯氧乙酸

BEI 二乙烯亚胺

CTAB (cetyltriethylammonium bromide) 十六烷基三甲基溴化铵

d 9day) 天

EB (Ethidium Bromide) 溴化乙锭

FMD(foot-and-mouth disease virus) 口蹄疫

FMDV(foot-and-mouth disease virus) 口蹄疫病毒

GUS (β -glucuronidase) β -葡糖醛酸糖苷酶

h (hour) 小时

Hyg (hygromycin B) 潮霉素

Kan (kanamycin) 卡那霉素

KT (kinetin) 6-呋喃甲基腺嘌呤

min (minute) 分钟

MS 愈伤组织诱导培养基

OD (Optical density) 光密度

PCR (polymerase chain reaction) 聚合酶链式反应

PEG (polyethylene glycol) 聚乙二醇

PLO 多聚-L-鸟氨酸

PPO (Polyphenol Oxidase) 多酚氧化酶

rmp (Round per minute) 转/分钟

SDS (Sodium dodecyl sulfate) 十二烷基硫酸钠

Taq DNAase (Taq DNA polymerase) Taq DNA聚合酶

TE Tris.CL,EDTA buffer Tris.CL, EDTA缓冲液

Timentin 特美汀/替卡西林/克拉维酸钾

Tris Tris(hydroxymethy)aminomethane三羟甲基氨基甲烷

X-gluc 5-溴-4-氯-3-吲哚- β -D-葡糖苷酸

带格式的: 边框: 底端: (单实线, 自动设置, 0.75 磅行宽)

带格式的: 字体: 五号

带格式的: 字体: Times New Roman, 小三

带格式的: 标题 1, 段落间距段前: 24 磅, 段后: 24 磅

带格式的: 字体: 小四

带格式的: 缩进: 首行缩进: 1.92 字符

带格式表格

带格式的: 缩进: 首行缩进: 2 字符

带格式的: 缩进: 首行缩进: 1.92 字符

带格式的: 字体: 小四

带格式的: 缩进: 首行缩进: 2 字符

带格式的: 字体: 小四

带格式的: 缩进: 首行缩进: 2 字符

带格式的: 缩进: 首行缩进: 1.92 字符

带格式的: 字体: 小四

带格式的: 缩进: 首行缩进: 2 字符

删除的内容: Rmp

带格式的: 缩进: 首行缩进: 1.92 字符

带格式的: 字体: 小四

带格式的: 字体: 小四

带格式的: 缩进: 首行缩进: 2.42 字符

带格式的: 字体: 五号

带格式的: 居中

1. 绪论

1.1 口蹄疫简介

口蹄疫(Foot-and-mouth disease, FMD)是由口蹄疫病毒引起的烈性传染病，主要感染偶蹄目动物，受感染患病的动物在消化道的粘膜、口腔、蹄部、乳房及皮肤的无毛发处等处发生溃烂或水泡。人和非偶蹄动物也可感染此病，但症状相对较轻。由于猪、牛、羊等主要的家畜均可感染此病，并能形成大规模的流行，所以世界动物卫生组织（OIE）将该病列为A类家畜传染病之首^[1]。

口蹄疫病毒通过直接接触和间接接触两种方式传染。直接接触主要是通过消化道感染，或经由皮肤、粘膜等侵入引起传染。间接接触主要通过被污染的草料或饮用水而感染，此外空气也是重要的传播媒介。除动物死亡造成的直接损失外，动物在患病期间肉和奶的生产停止、病后肉和奶产量长期减少，以及种用价值丧失都将造成较大的经济损失。

1897年，Loeffler和Frosch二人发现口蹄疫病原的滤过性，这为之后口蹄疫疾病的研究及以后许多动物和人类的病毒性传染病的进一步研究奠定了基础。

口蹄疫病原为口蹄疫病毒(Foot-and-mouth disease virus, FMDV)。FMDV属小RNA 病毒科(Picornaviridae)，口蹄疫病毒属(Aphthovirus)，是目前所知病毒中最细微的一级，有7 种不同的血清型，即O、A、C 型(统称欧洲型)，SAT1、SAT2、SAT3(南非1、2、3型，统称非洲型)和Asia I(亚洲I 型，称亚洲型)，以及65个以上亚型。7 种不同血清型可以根据核酸同源性大小分为两群：O、A、C 和Asia I 为第一群，SAT1、SAT2、SAT3 为第二群。群内各型同源性达60-70%，但两群之间同源性仅为25-40%，各血清型间无血清交叉和交叉免疫现象，各个血清型又包括多个亚型^[43]。即使同一血清型的不同病毒抗原性亦有变化，这给口蹄疫的防制和治疗带来了困难^[1]。O型口蹄疫为全世界流行最广的一个血清型，此外，根据农业部发布的信息，我国近年流行的口蹄疫还有A型和亚洲I型。

带格式的

带格式的：字体：(中文) 宋体，五号，非加粗

删除的内容：农杆菌介导的口蹄疫抗原决定簇融合基因转化苜蓿初探

带格式的：字体：(中文) 宋体，五号，非加粗

带格式的：边框:底端: (单实线, 自动设置, 0.75 磅行宽)

带格式的：字体：(中文) 宋体，五号

带格式的：字体：五号

带格式的：字体：(中文) 黑体，小三

带格式的：标题 1, 居中, 段落间距段前: 24 磅, 段后: 24 磅, 行距: 1.5 倍行距

带格式的：字体：(中文) 黑体，小三

删除的内容：

带格式的：字体：(默认) Times New Roman

带格式的：段落间距段前: 24 磅, 段后: 12 磅, 行距: 1.5 倍行距

带格式的：字体：五号

1.2 疫苗生产系统的概述

1798年,人类首创并应用疫苗有效地预防了天花。在接下来的两个多世纪里,疫苗的研制开发和实践应用都取得了很大的发展。目前,疫苗已成为人类预防传染性疾病最成功、最有效的手段之一^[2]。

1.2.1 传统疫苗

传统疫苗是指将病原细菌或病毒及其代谢产物或含毒组织经过人工减毒、脱毒、灭活等方法制成的疫苗。传统的疫苗主要有两类:减毒活病原疫苗和灭活病原疫苗^[3]。

减毒活病原疫苗:是指通过连续继代病原物,逐步减弱其毒性,使之对宿主动物丧失致病能力但能使宿主机体产生免疫应答的疫苗^[4]。此外,从自然界中筛选出的自然弱毒株,也同样可以制备减毒疫苗。减毒疫苗主要是通过交叉培养致弱^[5]。减毒疫苗具有剂量小、保护时间长、效果较好、价格低廉等诸多优点。但是这种疫苗研制周期长,病毒要繁殖很多代,有时甚至需要上百代;减毒疫苗对宿主的物种特异性要求很高,对于某种特定动物的减毒,并不能保证对另一种动物的减毒;而且经过传代后减毒活疫苗毒力有可能恢复;此外一些病原微生物难于减毒^[6]。

灭活病原疫苗:将含病原的材料经过物理或化学的方法处理,保持其良好的免疫原性但是丧失感染性或毒性的疫苗^[7]。灭活疫苗,目前主要是采用二乙烯亚胺(BEI)灭活剂。与减毒活疫苗相比,灭活疫苗更安全且生产周期短。但灭活疫苗仍存在一些局限性,比如效果不佳并且来源受限制,化学灭活疫苗的制备需要培养大量病毒,需要大量设备;灭活疫苗产生的抗病原免疫能力比活病毒感染动物使动物机体产生的抗体要弱^[8]。

1.2.2 新型基因工程疫苗

新型基因工程疫苗是相对于上述传统疫苗而言,指利用基因工程技术制备的疫苗。随着基因工程技术的迅猛发展,新的基因工程疫苗相继出现。新型基因工

带格式的: 字体: 五号

带格式的: 边框: 底端: (单实线, 自动设置, 0.75磅行宽)

带格式的: 字体: (默认) Times New Roman

带格式的: 段落间距段前: 24磅, 段后: 12磅, 行距: 1.5倍行距

带格式的: 段落间距段前: 12磅, 段后: 6磅, 行距: 1.5倍行距

删除的内容:

带格式的: 缩进: 首行缩进: 2字符

带格式的: 段落间距段前: 12磅, 段后: 6磅, 行距: 1.5倍行距

带格式的: 字体: 五号

带格式的: 居中

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库