

鸡 *PPAR-γ* 基因表达载体构建及抗血清制备

王 婷¹, 王启贵^{1, 2}, 李 辉², 张富春^{1*}

(1. 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆生物资源基因工程重点实验室, 乌鲁木齐 830046;

2. 东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 为构建鸡 *PPAR-γ* 基因的原核和真核表达载体并制备鸡 *PPAR-γ* 的抗血清, 根据鸡 *PPAR-γ* 基因 cDNA 序列设计一对引物, 采用 RT-PCR 的方法扩增鸡 *PPAR-γ* 基因的 cDNA 片段并将其分别插入到原核表达载体 pGEX-4T-1 和真核表达载体 pcDNA3 中; 进而诱导重组原核表达载体 pGEX-4T-1/*PPAR-γ* 在大肠杆菌 BL21 中表达; 同时利用重组真核表达载体 pcDNA3/*PPAR-γ* 免疫注射小鼠使其产生免疫应答。SDS-PAGE 结果显示 pGEX-4T-1/*PPAR-γ* 在大肠杆菌 BL21 中得到了高效的表达。ELISA 和 Western blot 结果表明, pcDNA3/*PPAR-γ* 免疫小鼠产生了效价较高和特异性较强的抗体。本研究所构建的真核表达载体 pcDNA3/*PPAR-γ* 为在细胞水平上研究鸡 *PPAR-γ* 基因超表达提供了有力的工具; 所获得的重组蛋白和抗血清为在蛋白水平上研究鸡 *PPAR-γ* 基因的功能奠定了基础。

关键词: 鸡; *PPAR-γ* 基因; 载体构建; 抗血清

中图分类号: S831.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2007)07-0651-06

Construction of Expression Vector of Chicken Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma Gene and the Preparation of Its Antiserum

WANG Ping¹, WANG Qi-gui^{1, 2}, LI Hui², ZHANG Fu-chun^{1*}

(1. Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, College of Life Science and Technology, Xinjiang University, 830046, China;

2. College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: To construct the prokaryotic and eukaryotic expression vector and prepare the antiserum of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (*PPAR-γ*) gene in chicken. The sequence of *PPAR-γ* gene was amplified by reverse transcriptase-PCR (RT-PCR) from the total RNA of chicken fatty acid and insert into pGEX-4T-1 vector and pcDNA3 vector. Recombinant plasmid pGEX-4T-1/*PPAR-γ* was expressed in *E. coli* BL21; Mice were immunized with purified recombinant plasmid pcDNA3/*PPAR-γ*. SDS-PAGE showed that recombinant pGEX-4T-1/*PPAR-γ* expressed abundantly a fusion protein in *E. coli* BL21. ELISA and Western blot showed that antibody obtained from the serum of mice by injecting recombinant pcDNA3/*PPAR-γ* was high effective and strong specific. The recombinant pcDNA3/*PPAR-γ* in the current study would provide a powerful tool for overexpression research of chicken *PPAR-γ* gene at cell level; The recombinant protein and antiserum in the current study would also establish a basis for function research of chicken *PPAR-γ* at protein level.

Key words: chicken; *PPAR-γ* gene; construction of expression vector; antiserum

收稿日期: 2006-06-29

基金项目: 中国博士后科学基金(2005037018); 新疆生物资源基因工程重点实验室开放基金(2005XJDX004)

作者简介: 王 婷(1980-), 女, 在读硕士, 主要从事分子生物学研究, E-mail: wangp129@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 张富春, 主要从事分子生物学研究, E-mail: zfcxju@xju.edu.cn

过氧化物酶体是具有多种功能的细胞器,如参与脂肪酸的氧化等。过氧化物酶体功能缺陷可以引起多种疾病。过氧化物酶体能在许多结构不同的化学物质作用下增生,这些物质被称为过氧化物酶体增殖剂(Peroxisome proliferators, PPs)^[1]。Issermann等^[2]首先发现了一种新的甾类激素受体,它被一类脂肪酸样化合物-PP激活,而被命名为PP激活受体(Peroxisome proliferators-activated receptor, PPAR)。PPAR还能被内源性脂肪酸及其代谢产物激活而又被称为脂肪酸受体。

PPAR基因在不同物种中存在几种亚型,包括较为清楚的 α 、 β 、 γ 3种亚型,并且在不同组织中的表达量有较大差异^[3]。在细胞和生理水平上对PPAR功能的研究表明,活化的PPAR- α 促进脂蛋白脂肪酶合成,催化脂蛋白中的甘油三酯脂解成游离脂肪酸^[4]。线粒体 β 氧化可为机体提供ATP,这个过程的限制步骤是脂肪酸在肉碱转运酶体的作用下进入线粒体。PPAR- α 可以调节若干线粒体脂肪酸催化酶的表达,通过诱导肌肉和肝脏特异性的肉毒碱棕榈酰转运酶表达而调控脂肪酸向线粒体的转运,刺激 β 氧化过程,降低脂肪酸和甘油三酯合成。另外,有医药学方面的研究显示PPAR- α 基因与人糖尿病、动脉硬化、肥胖症等疾病的形成有很大的相关^[5]。PPAR- α 的目标基因是一组相互联系的参与脂类分解的基因,如在脂肪酸穿过膜吸收、脂肪酸氧化、脂蛋白组装和转运、肝脏中脂肪酸分解中起重要作用的基因^[6]。PPAR- β 没有被引起重视,也许是因为其同重要的临床表现缺乏足够的联系^[7]。近年研究表明鼠PPAR- β 基因对心血管疾病的影响与其在骨髓中转录的情况有关^[8]。在脂肪组织PPAR- β 基因超量表达的转基因小鼠中,PPAR- β 可以激活 β 氧化酶和三磷酸甘油水解酶,使其参与类脂化合物的新陈代谢,并影响线粒体的活性,使脂肪贮存转变为产热过程^[9]。PPAR- γ 在脂肪组织中参与脂肪细胞的分化,是诱导脂肪细胞分化的特异性转录因子。在脂肪细胞分化过程中,PPAR- γ 表达水平不断上升,到成熟脂肪细胞达最高。成纤维细胞和成肌细胞转染PPAR- γ 逆转录病毒表达载体后能诱导脂肪细胞分化。大部分PPAR- γ 的目标基因直接参与脂肪合成,如脂蛋白脂酶(LPL)基因,脂肪酸结合蛋白(FABP)基因,乙酰辅酶A合成酶(ACC)基因和脂肪酸转运蛋白(FATP)基因^[10]。

孟和等^[11]发现PPAR- γ 基因在鸡多种组织中

表达,且在脂肪和肾脏中表达水平很高。Sato等^[12]研究发现,鸡PPAR- γ 基因在6周龄腹脂中的表达水平比1、2周龄高,但在30周龄,与哺乳动物相反,在脂肪组织中表达水平最低;在产蛋高峰时,肝脏、骨骼肌、卵巢的表达会增高,而脂肪组织表达水平下降。这些研究表明PPAR- γ 基因可能对鸡的脂肪组织生长和发育有一定作用,但有关禽类PPAR- γ 基因功能方面的研究未见其它报道。为此,本研究分别构建鸡PPAR- γ 基因的原核和真核表达载体,在大肠杆菌中诱导PPAR- γ 基因表达,同时用DNA免疫的方式免疫小鼠使其产生抗体,为进一步研究鸡PPAR- γ 基因功能及其可能的作用机制奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 菌株、质粒和试验动物

大肠杆菌BL21、原核表达载体pGEX-4T-1和真核表达载体pcDNA3为本实验室保存,昆明白小鼠购自新疆医科大学。

1.2 主要试剂

Ex-Taq DNA聚合酶、T4 DNA连接酶、各种限制性核酸内切酶、DNA分子量标准、TRIZOL试剂、DNA片段纯化试剂盒、质粒提取纯化试剂盒和反转录试剂盒购自大连宝生物公司;用于ELISA显色反应的TMB(四甲基联苯胺)购自华美生物工程公司;DAB(二氨基联苯胺)购自AMRESCO公司;Bradford试剂购自上海生工;HRP标记的羊抗小鼠IgG抗体和蛋白质分子量标准购自华美生物公司;其他试剂均为国产分析纯。

1.3 鸡PPAR- γ 基因重组质粒的构建与鉴定

根据家鸡PPAR- γ 基因mRNA序列(GenBank Accession No.:AF163811)设计一对引物,F:5'-GC GAATTC ATT ACA ATG GTT GAC ACA G-3',R:5'-GC CTCGAG TCG CCA TTA ATA TAA GTC TT -3',预期扩增片段长度1455bp(包括完整的编码区、保护碱基和酶切位点),引物由上海英俊生物公司合成。

利用TRIZOL试剂提取鸡脂肪组织总RNA,并利用反转录试剂盒(TaKaRa RNA PCR Kit Ver. 3.0)对总RNA进行反转录,然后以反转录的cDNA为模板对目的基因进行PCR扩增。PPAR- γ 基因的PCR产物经琼脂糖凝胶电泳分离、回收,并经*EcoRI*和*XhoI*双酶切后分别与pGEX-4T-1和

pcDNA3 质粒连接,然后转化到大肠杆菌 BL21 中,重组质粒经酶切鉴定后送上海生物工程公司测序。

1.4 融合蛋白在大肠杆菌中的诱导表达和纯化

分别采用 0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 mmol/L 的异丙基硫代半乳糖苷(IPTG)28℃诱导 4、6 和 8 h,选择 GST/PPAR- γ 融合蛋白表达的最佳条件。将最佳诱导条件下含有 pGEX-4T-1/PPAR- γ 质粒的 BL21 菌株,离心收集菌体,加入 10 mL 细菌裂解液(PBS pH 8.0,0.3 g/L 溶菌酶)重悬,置冰浴中超声破菌。离心后将上清和沉淀分别制样,进行 SDS-PAGE。包涵体蛋白用 N-十二烷基氨酸钠沉淀蛋白变性过夜,经缓慢透析去除 N-十二烷基氨酸钠,蛋白复性后,用谷胱苷肽琼脂糖亲和层析柱对目的蛋白进行亲和层析纯化,并采用 Bradford 方法进行蛋白定量。

1.5 重组质粒 pcDNA3/PPAR- γ 在小鼠脏器中的表达

碱裂解法大量制备重组质粒 pcDNA3/PPAR- γ 以及对照质粒 pcDNA3,以 PEG 8 000 沉淀纯化后溶于灭菌的生理盐水中,调整浓度至 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 。取昆明白小鼠 4 只分为 2 组,每组 2 只。第 1 组小鼠用 pcDNA3/PPAR- γ 质粒进行尾静脉注射,第 2 组小鼠用 pcDNA3 质粒进行尾静脉注射,每只小鼠注射量均为 3 mL。2 组小鼠注射后 8 h 断颈椎处死,pcDNA3/PPAR- γ 质粒注射组的小鼠分别取心、肝、脾、肺和肾脏;pcDNA3 质粒注射组的小鼠只取肝脏。分别提取 4 只小鼠各种组织的总 RNA,然后将组内 2 只小鼠相同组织的总 RNA 等量混合后反转录成 cDNA,再利用引物 F 和 R 检测外源 PPAR- γ 基因在小鼠脏器中的表达情况。

1.6 抗血清的制备及检测

取 4~6 周龄的雌性昆明白小鼠 20 只,体重为 18~22 g,将小鼠随机分为 2 组,每组 10 只。A 组(pcDNA3/PPAR- γ 质粒免疫组);每只小鼠双侧胫骨前肌分别注射 0.5% 盐酸普鲁卡因溶液 100 μg ,24 h 后分别在原注射处注射质粒 pcDNA3/PPAR- γ 100 μg ,以 10 d 间隔注射接种 3 次;B 组(pcDNA 3 对照组);每只小鼠双侧胫骨前肌分别注射 0.5% 盐酸普鲁卡因溶液 100 μg ,24 h 后分别在原注射处注射质粒 pcDNA3 100 μg ,以 10 d 间隔注射接种 3 次。

首免前每只小鼠眼眶静脉采血 30 μL 收集血清,最后 1 次免疫后 10 d 小鼠断头采血并收集全部

血清,用 ELISA 法测定抗体的效价;于 96 孔酶标板上以纯化的 PPAR 蛋白(2 g/孔)为包被抗原,待测血清稀释 100 倍作为一抗,辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG 为二抗。用酶标仪测定每孔 OD₄₅₀/OD₆₅₀ 的值,用空白孔调零。抗体的特异性采用 Western blot 进行鉴定;在 28℃、IPTG 终浓度为 0.5 mmol/L、诱导 6 h 条件下,分别诱导含有 pGEX-4T-1 和 pGEX-4T-1/PPAR- γ 质粒的大肠杆菌 BL21 菌株,菌体蛋白变性后,经 12% SDS-PAGE 分离并电转至 PVDF 膜上,然后用最后一次质粒免疫获得的抗血清和 HRP 标记的羊抗小鼠二抗进行 Western blot 分析,具体操作参照《分子克隆实验指南》。

2 结果与分析

2.1 鸡 PPAR- γ 基因重组质粒的构建与鉴定

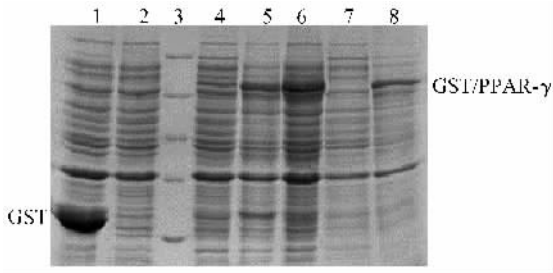
琼脂糖凝胶电泳分析表明,PCR 扩增目的基因片段的大小约为 1 500 bp,与预期结果一致。将鸡 PPAR- γ 基因插入到 pGEX-4T-1 和 pcDNA3 的 *EcoR* I / *Xho* I 双酶切位点,得到重组质粒 pGEX-4T-1/PPAR- γ 和 pcDNA3/PPAR- γ 。酶切鉴定后进行琼脂糖凝胶电泳显示的载体带和目的基因带均与理论值相符。测序结果证实,鸡 PPAR- γ 基因均以正向插入到这 2 个重组质粒中,且与 GenBank 中该基因的序列相同。

2.2 重组蛋白在大肠杆菌中的表达及纯化

SDS-PAGE 电泳检测表明重组质粒 pGEX-4T-1/PPAR- γ 可以在大肠杆菌中表达融合蛋白,分子量大约为 80 ku,与目的蛋白 GST/PPAR- γ 的分子量大小一致。通过不同的培养时间、不同浓度的 IPTG 优化 GST/PPAR- γ 融合蛋白表达条件,结果表明 37℃ 摇菌至 OD₆₀₀ 达 0.5,加入 IPTG 至终浓度为 0.5 mmol/L,28℃ 继续培养 6 h 后 GST/PPAR- γ 融合蛋白表达产量最高。菌体超声破碎后经 SDS-PAGE 结果表明,GST/PPAR- γ 融合蛋白主要以包涵体形式表达(图 1)。包涵体蛋白经 N-十二烷基氨酸钠沉淀变性、复性及谷胱苷肽琼脂糖亲和层析柱纯化后,获得大约 100 mg 外源重组蛋白。

2.3 重组质粒在小鼠脏器中的瞬时表达

RT-PCR 结果表明,尾静脉注射 pcDNA3/PPAR- γ 重组质粒后,PPAR- γ 基因在小鼠肝脏中大量表达,而在检测的其它脏器中(心、脾、肺和肾)未见该基因的表达,尾静脉注射 pcDNA3 质粒的小



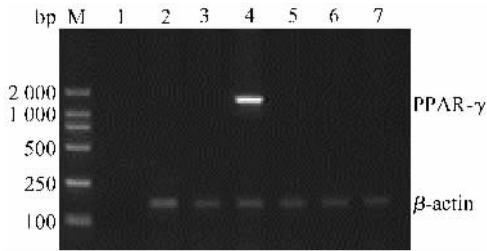
1. IPTG 诱导的含有 pGEX-4T-1 质粒的 BL21; 2. 没有用 IPTG 诱导的含有 pGEX-4T-1/PPAR- γ 质粒的 BL21; 3. 分子量标准 (97.4、66.2、43.0、31.0、20.1、14.4 ku); 4~6. IPTG 诱导 4、6、8 h 含有 pGEX-4T-1/PPAR- γ 质粒的 BL21; 7. IPTG 诱导的含有 pGEX-4T-1/PPAR- γ 质粒的 BL21 超声上清液; 8. IPTG 诱导的含有 pGEX-4T-1/PPAR- γ 质粒的 BL21 超声沉淀

1. BL21 (pGEX-4T-1) induced with IPTG; 2. BL21 (pGEX-4T-1/PPAR- γ) induced without IPTG; 3. Marker (97.4, 66.2, 43.0, 31.0, 20.1, 14.4 ku); 4-6. BL21 (pGEX-4T-1/PPAR- γ) induced with IPTG for 4, 6, 8 h; 7. Supernatant of BL21 (pGEX-4T-1/PPAR- γ) bacterial lysate; 8. Pellet of BL21 (pGEX-4T-1/PPAR- γ) bacterial lysate

图 1 pGEX-4T-1 /PPAR- γ 质粒在大肠杆菌 BL21 中表达的 SDS-PAGE 分析

Fig. 1 SDS-PAGE analysis of the expression of pGEX-4T-1/PPAR- γ in the *E. coli* BL21

鼠肝脏中也没有检测到该基因的表达(图 2)。这一结果表明重组质粒 pcDNA3/PPAR- γ 可以在小鼠体内有效的表达, 这为后续的质粒免疫提供了重要的信息。



M, DL2 000 分子量标准; 1. PCR 空白对照; 2. 注射 pcDNA3 质粒的小鼠肝脏 cDNA; 3~7. 依次为注射 pcDNA3/PPAR- γ 质粒的小鼠心、肝、脾、肺和肾脏 cDNA

M, DL2 000 marker; 1. PCR blank; 2. The cDNA in mouse liver by injecting pcDNA3; 3-7. The cDNA in mouse heart, liver, spleen, lung, kidney by injecting pcDNA3/PPAR- γ

图 2 注射 pcDNA3/PPAR- γ 质粒后小鼠脏器中 PPAR- γ 基因的表达

Fig. 2 The expression of PPAR- γ gene in mouse viscus by injecting pcDNA3/PPAR- γ

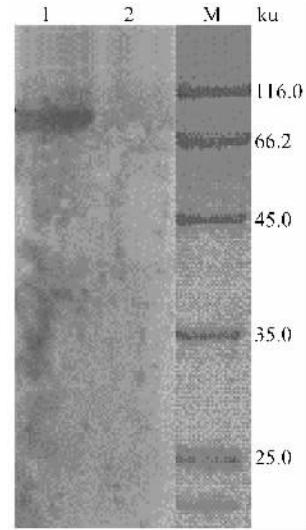
2.4 抗血清的制备及特异性分析

ELISA 法测定抗血清效价结果表明, 重组质粒 pcDNA3/PPAR- γ 免疫小鼠获得的抗血清具有较高的效价(表 1)。Western blot 结果显示在含有 pGEX-4T-1/PPAR- γ 重组质粒的菌体蛋白中出现 1 条 80 ku 左右的特异性带(与 GST/PPAR- γ 融合蛋白大小一致), 而含有 pGEX-4T-1 质粒的菌体蛋白中没有出现特异性条带。这些结果表明, 用重组质粒 pcDNA3/PPAR- γ 免疫小鼠后获得了与 PPAR- γ 蛋白特异性结合的抗体(图 3)。

表 1 ELISA 检测抗血清效价

Table 1 The value of antisera detected by ELISA

组别 Groups	OD ₄₅₀ /OD ₆₅₀ ($\bar{x} \pm SD$)
A 组 (pcDNA3/PPAR- γ 组)	1.79 \pm 0.13
B 组 (pcDNA3 组)	0.21 \pm 0.08
首免前	0.082 \pm 0.22



1. IPTG 诱导含有 pGEX-4T-1/PPAR- γ 质粒的 BL21 菌体蛋白; 2. IPTG 诱导的含有 pGEX-4T-1 质粒的 BL21 菌体蛋白; M. 蛋白分子量标准

1. BL21 protein (pGEX-4T-1/PPAR- γ) induced with IPTG; 2. BL21 protein (pGEX-4T-1) induced with IPTG; M. Protein marker

图 3 鼠抗鸡 PPAR- γ 抗体特异性的 Western blot 鉴定

Fig. 3 Specific identification of mouse anti PPAR- γ antiserum by Western blot

3 讨论

近年来关于 PPAR- γ 的研究揭示了其在生物学过程中的多种功能, 如 PPAR- γ 是诱导脂肪细胞

分化的特异性转录因子,其与脂肪细胞的分化、肥胖及胰岛素抵抗有密切关系。*PPAR* γ 在调节细胞周期和单核/巨噬细胞生物学功能方面也有重要作用^[13]。Liu 等^[14]发现 TZD18 作为 *PPAR* γ 的配基可以阻止细胞生长,体外诱导人神经胶质胚细胞瘤 T98G 细胞凋亡。这些研究结果表明可以通过药物作用于 *PPAR* γ 基因从而控制肥胖相关疾病。但这些研究都是关于哺乳动物的,而针对禽类 *PPAR* γ 基因功能方面的研究还未见报道。本研究通过构建鸡 *PPAR* γ 基因的原核表达载体,诱导 *PPAR* γ 基因在大肠杆菌中表达,并纯化出了外源重组蛋白。

本研究还构建了鸡 *PPAR* γ 基因的真核表达载体,采用 DNA 免疫(质粒免疫)的方式免疫小鼠使其产生抗体。DNA 免疫是 20 世纪 90 年代发展起来的一项新的免疫技术,迄今为止,其在多种感染性疾病的防治中已显示出其他形式疫苗无法比拟的优势,其中针对乙肝、艾滋病、流感、疟疾等感染性疾病的基因疫苗已进入临床研究,显示出巨大的应用潜能。DNA 疫苗(真核表达质粒)制备简单、造价低廉、性质稳定、便于储存和运输,能诱导黏膜、体液和细胞免疫反应^[15]。DNA 疫苗可以诱导机体产生持久而强烈的免疫反应^[16,17]。采用 DNA 免疫的方式获得的抗体,可以避免蛋白免疫过程中由于免疫原纯度不高而带来的相应问题。本研究利用 DNA 免疫获得的抗体与构建的 pGEX-4T-1/*PPAR* γ 重组质粒在大肠杆菌中表达的外源重组蛋白进行 Western blot 分析,结果表明仅在含有该重组质粒的菌体蛋白中出现 1 条 80 ku 左右的特异性带,这不仅表明 DNA 免疫获得的抗体具有很高的特异性,还可以充分证明本研究在大肠杆菌中诱导表达的外源重组蛋白为鸡 *PPAR* γ 基因的产物。

同时,本研究在检测真核表达载体能否有效地表达时,用一种新的方法代替了重组质粒转染细胞系检测基因瞬时表达的传统方法,即采用了小鼠活体模型的方法,也就是通过水压法(Hydrodynamics-based transfection)尾静脉注射重组质粒,然后检测外源基因在小鼠脏器中表达^[18~20]。采用传统的方法检测外源基因表达时,不仅需要繁琐的细胞培养过程,而且利用脂质体转染重组质粒价格也十分昂贵,更重要的是外源基因在细胞系中的表达不能完全代表其在动物体内能否表达。而采用小鼠活体模型的方法进行检测外源基因表达时,首先重组质粒是在动物体内表达,这为后续 DNA 免疫时外

源蛋白能否在体内表达提供了可靠的信息,其次利用小鼠尾静脉直接注射重组质粒,操作非常方便,并且极大的降低了试验成本。

本研究所构建的真核表达载体 pcDNA3/*PPAR* γ 为在细胞水平上研究鸡 *PPAR* γ 基因超表达对细胞增殖、分化的影响提供了有力的工具,所获得的重组蛋白和抗血清为在蛋白水平上研究鸡 *PPAR* γ 功能奠定了基础。

参考文献:

- [1] 亓立峰,许梓荣. 过氧化物酶体增殖剂受体与脂质代谢调控[J]. 中国兽药杂志, 2003,37(7):33~35.
- [2] Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators[J]. Nature, 1990, 347(20): 645~650.
- [3] Braissant O, Foulle F, Scotto C, *et al.* Differential expression of peroxisome proliferators activated receptors (PPARs): Tissue distribution of PPAR α , β , and γ in the adult rat [J]. J Endocrinology, 1996, 137(1): 345~349.
- [4] 刘美莲. 过氧化物酶体增殖物激活受体研究的新进展[J]. 国外医学·生理、病理科学与临床分册, 2001, 21(5):413~417.
- [5] 张 颖,雷 红,邓幼平. II 型糖尿病患者 *PPAR* α 基因多态性的研究[J]. 武汉大学学报, 2004,25(4):112~115.
- [6] Dreyer C, Krey G, Keller H, *et al.* Control of the peroxisome β oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors[J]. Cell, 1992, 68(15): 879~887.
- [7] Kersten S, Wahli W. Peroxisome proliferator activated receptor agonists[J]. J EXS, 2000, 89(37): 141~151.
- [8] Lee CH, Chawla A, Urbiztondo N, *et al.* Transcriptional repression of atherogenic inflammation: Modulation by *PPAR* β [J]. Science, 2003, 302:453~459.
- [9] Wang H. Burning off the fat [J]. Cell, 2003, 159(5):113.
- [10] Motojima K, Passilly P, Peters J M, *et al.* Expression of putative fatty acid transporter genes are regulated by peroxisome proliferator-activated receptor α and γ activators in a tissue and inducer specific manner[J]. J Biol Chem, 1998, 273(27): 16 710~16 714.
- [11] 孟 和,李 辉,王宇祥. 鸡 *PPARs* 基因组织表达特性的研究[J]. 遗传学报, 2004,31(7): 682~687.

- [12] Sato K, Fukao K, Seki Y, *et al.* Expression of the chicken peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene is influenced by aging, nutrition, and agonist administration[J]. *Poult Sci*, 2004, 83(8): 1 342~1 347.
- [13] 孙玉茹, 杨 泽. 核转录因子 PPAR γ 2 的研究进展[J]. *遗传*, 2003, 25(6): 713~717.
- [14] Liu D, Zang C, Liu H, *et al.* A novel PPAR alpha/gamma dual agonist inhibits cell growth and induces apoptosis in human glioblastoma T9 8G cells [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25(10): 1 312~1 319.
- [15] 宋建明, 孙向乐, 王一理, 等. 人乳头状瘤病毒(HPV) 16L1 病毒样颗粒蛋白与 HPV16L1 基因联合免疫的体液免疫反应及其抗体的体外中和实验[J]. *中华病理学杂志*, 2005, 34(7): 421~424.
- [16] 邓小玲. DNA 疫苗的作用机理及其抗肿瘤的临床应用进展[J]. *国外医学免疫学分册*, 2005, 28(1): 20~23.
- [17] 邓小玲, 王 霞, 魏大鹏, 等. DNA 疫苗引发局部肌肉组织 DCs、CD4⁺ T 细胞的聚集浸润[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2005, 36(4): 519~521.
- [18] Liu F, Song Y K, Liu D. Hydrodynamics-based transfection in animals by systemic administration of plasmid DNA [J]. *J Gene Therapy*, 1999, 6(3): 1 258~1 266.
- [19] Zhang G, Song Y K, Liu D. Long-term expression of human alpha1-antitrypsin gene in mouse liver achieved by intravenous administration of plasmid DNA using a hydrodynamics based procedure [J]. *Gene Therapy*, 2000, 7(2): 1 344~1 349.
- [20] Zhang G, Song Y K, Liu D, *et al.* Hydroporation as the mechanism of hydrodynamic delivery [J]. *Gene Therapy*, 2004, 11(1): 675~682.

动物疫情速递

罗马尼亚发生羊痒病

2007年6月13日,罗马尼亚 Stefan Nicolae 博士向 OIE 报告了羊痒病疫情。疫情始于 2007年5月21日,于2007年6月12日确认,属于临床病例。病原是羊痒病朊病毒。诊断方法为实验室检验。疫区位于 TIMIS 省 Hitias 村,感染动物是绵羊,该改良羊群有 17 例易感动物,1 例病例(虚弱、肌肉震颤和流涎),未出现死亡。病例已被销毁,病理剖解见棘球绦虫属寄生虫感染和肌肉水肿。感染来源尚不清楚。实验室诊断在诊断和动物卫生研究所进行,所用方法为 western blotting,结果呈阳性。罗马尼亚采取的控制措施是国内限制移动、筛选,罗方未禁止免疫,并即将进行扑杀。罗马尼亚上一次发生羊痒病是在 2006年12月8日。

以色列发生皱皮病

2007年6月13日,以色列流行病学家 Michel Bellaiche 博士向 OIE 报告了皱皮病疫情。疫情始于 2007年6月9日,于2007年6月13日确认,属于临床病例。诊断方法为怀疑、临床诊断和实验室诊断。病原是痘病毒科山羊痘病毒属成员。疫区位于 HADAROM 省 Beer-Sheva 区 ALUMIM 村,感染动物为牛,有 485 例易感动物,11 例病例,未出现死亡,销毁 11 例。此次暴发前几周,巴勒斯坦政府兽医机构向以色列兽医服务机构报告了 Gaza strip 地区 2 起疫情。应巴勒斯坦官方要求向其援助了羊痘疫苗。感染来自空气播散。以色列采取的控制措施是国内限制移动、筛选、紧急免疫、喷雾/浸洗,检疫、扑杀和控制节肢动物。以色列 Kimron 兽医研究所病毒学实验室的免疫组织化学试验、PCR 试验呈阳性。以色列上一次发生皱皮病是在 2006年6月。

(摘译自 OIE 网站)