

藻類在疫苗上的發展

朱惠真、陳紫嫻

水產試驗所東港生技研究中心

前言

傳染性疾病會直接造成部分個體死亡，並且會有明顯的發病率和死亡率。即使該疾病已經有疫苗存在，仍可能會受限於衛生組織以及國家的醫療水準。雖然現在疫苗的相關研發突飛猛進，但世界上仍有很多開發中國家沒有疫苗可用，主要是因為疫苗的研製所費不貲，導致開發中國家陷入龐大支出和健保管理的兩難困境 (Elizabeth et al., 2014)。

目前全世界應用的疫苗型態可分為不活化疫苗、減毒性疫苗、DNA 疫苗及次單位疫苗等 4 種；其中不活化疫苗引起的免疫反應差，常需配合佐劑使用。減毒性疫苗具有較佳之免疫記憶性效果且成本低廉，但穩定性較差，且突變的菌株可能會污染生態環境。DNA 疫苗容易引發的問題包括會引起 anti-DNA 抗體反應或是引起特定基因的破壞突變，或者改變致癌基因或抑癌基因的表現，導致癌化的危險。

疫苗的產出可分為動物細胞產出以及植物細胞產出。植物細胞產生的疫苗比起傳統的重組疫苗，價格較為低廉，而且植物細胞產生的疫苗成本比細胞培養、細菌培養或是酵母菌細胞培養所產生的疫苗價錢低了數千

倍，但目前唯一核可的植物疫苗，是利用抗原表現在煙草細胞而產生出的疫苗，採血管注射方式來治療家禽的新城病病毒 (Newcastle disease virus, NDV) 疾病，美國食品藥品管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 於 2006 年雖已核可此種疫苗生產，但是仍不得販售 (Rybicki, 2009)。

以植物細胞及微藻作為疫苗的優點缺點

植物細胞有一個精緻的細胞壁，可以形成特殊的屏障，保護抗原由胃送達小腸，並可以接近與腸道相關之淋巴組織 (gut-associated lymphoid tissue) (Kwon et al., 2013)。研究顯示，免疫抗原轉殖進入很多可以食用的植物如萵苣、蕃茄、馬鈴薯和菸草等，其蛋白質產量非常的少，總溶解蛋白 (total soluble protein, TSP) 含量更少於 1%，其蛋白質的產生可以利用重組蛋白載體 (recombinant viral vectors) 或是農桿菌 (Agrobacterium) 感染，但是產生的蛋白質量並不穩定 (Rybicki, 2009)，在各種植物中，以菸草的表現效果最強，只可惜菸草不能食用，僅能利用純化的方式萃取蛋白質。

基於上述植物細胞的缺點，微藻為工業上和醫療上提供了高量產的蛋白質平台，特別是微藻具有形成雙硫鍵蛋白的能力，其葉綠體提供了獨一無二的蛋白質堆疊 (protein folding) 處所 (Chebolu et al., 2009)，總溶解蛋白質含量可以高達 10% (Manuell et al., 2007; Surzycki et al., 2009)。微藻中的衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 已經被用來生產應用於人類和其他動物的治療性蛋白，包含有人類的抗體、訊息分子，如血管內皮成長因子 (vascular endothelial growth factor) 等 (Rasala et al., 2010)。研究者除了提高基因的表現量之外，也改良基因的最佳表現化 (codon optimization)，將衣藻作為一種產生治療性蛋白的生產平台 (Franklin et al., 2002; Surzycki et al., 2009)。衣藻也被 FDA 認定為一般性安全物質 (generally recognized as safe)，它的優點也解決了植物轉殖基因後，無法用來作為食品的困境，因為一個衣藻細胞僅只有一個葉綠體，而葉綠體的體積佔據了整個衣藻的一半，容易產生同質性質體 (homoplasmid) 並且產生純度較高的蛋白質。除此之外，藻類很容易利用凍乾的方式保存，可以保存於室溫中長達 6–20 個月，其凍乾後抗原的效價仍和新鮮的藻類一致，不像一般的疫苗需要低溫保存，可減少成本的支出 (Gregory et al., 2013)。最早被研發成功的藻類合成疫苗是手口足病病毒的蛋白 VP1 嵌合霍亂毒素次單元 B 所形成的融合蛋白 (fusion protein)，此種抗原在植物中表現時，產量很低，但是在衣藻中表現則可以提高 3–4%。另一種是利用豬瘟病毒 (classical swine fever virus, CSFV) 的表面蛋白質 E2 在

衣藻中表現，除了可溶性蛋白質的產量，利用皮下注射之後也產生了極佳的免疫力 (Sun et al., 2003)。

微藻於水產上之應用

微藻在水產養殖上可以作為初期餌料的來源，在環保上可以作為淨化水質的媒介，在食品上可以作為食品添加物，其多元不飽和脂肪酸可以作為抗菌及抑癌的物質，更具有固定二氧化碳，減少溫室效應的功能。目前在水產方面，已有革蘭氏陰性細菌如弧菌之發酵及次單位之不活化疫苗上市。DNA 重組疫苗則仍侷限病毒性疫苗，例如，鱒魚之病毒性出血性敗血症及傳染性造血性壞死病毒之醣蛋白，以大腸桿菌及滅毒之假單胞菌所進行之醣蛋白表現，在實驗室評估已顯示出中等程度保護性及中和抗體。以 DNA 重組之生產技術取得疫苗上市執照只有傳染性胰臟壞死病毒，且 DNA 疫苗在使用上對魚體較為安全，對環境之污染亦較小。而以微藻產生疫苗的成功例子則是將白斑病毒 (white spot syndrome virus) 的 VP28 蛋白利用衣藻產出 (Surzycki et al., 2009)，但是因為所使用模式藻類皆為淡水藻類，對於水產的應用並不廣泛，目前微藻仍必須克服轉殖基因在細胞核內表現，蛋白質產量低，而在葉綠體中，蛋白質產量高卻缺乏糖化作用 (glycosylation) 的問題。若能以微藻作為疫苗餵食魚蝦苗，除可以提供必須的營養之外，也有助於提高其免疫力而減少病毒和細菌的感染，使臺灣的養殖產業向不用藥之生態養殖的目標前進。