

多形汉逊酵母外源基因表达系统

陈凤菊^{1,2} 卢善发^{1*} 胡敦孝²

¹(中国科学院植物研究所 北京 100093) ²(中国农业大学植保学院 北京 100094)

摘要 多形汉逊酵母是一种有很大潜力的外源基因表达系统,已在科研和工业化生产上广泛应用。用它生产来源于真核生物的外源基因有许多优点,如重组菌减数分裂稳定、能进行正确的翻译后加工和修饰、表达量高等。许多有商业价值的蛋白质在这一系统中得到成功表达,有的已投入市场。本文综述多形汉逊酵母宿主菌的生物学特性、基因工程操作技术、发酵及外源基因表达等方面的特点和最新进展。

关键词 多形汉逊酵母, 甲醇酵母, 外源基因表达

中图分类号 Q786 文献标识码 C 文章编号 1000-3061(2001)03-0246-04

酵母作为单细胞的真核微生物,既具原核生物生长快、遗传操作简单的特点,又有哺乳类细胞的翻译后加工和修饰功能,用来生产来源于真核生物的生物活性蛋白有很多优点。酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)是第一个用于表达外源基因的真核系统,20年来已成功用于表达来源于人、动物、植物和病毒的外源基因^[1],但这一表达系统在工业化生产中存在许多不足,如菌株不稳定、产量和分泌效率低、分泌的多肽链常过度糖基化等^[2]。

甲醇营养型酵母(简称甲醇酵母)是最近十年逐渐发展起来的一类可用于表达外源基因特别是真核生物基因的理想系统。这类酵母分属假丝酵母(*Candida*)、汉逊酵母(*Hansenula*)、毕赤酵母(*Pichia*)和球拟酵母(*Torulopsis*)4个属^[2],能在以甲醇为唯一碳源和能源的培养基上生长。与酿酒酵母相比,甲醇酵母外源基因表达系统具有重组菌的遗传性质稳定、表达量和分泌效率高、适于大规模发酵等优点。多形汉逊酵母(*Hansenula polymorpha*)是这类酵母中的佼佼者,是当前国际上公认的最为理想的外源基因表达系统之一,许多基因包括在其它系统中难以高效表达的基因已在其细胞中得到高效表达^[3]。国内对多形汉逊酵母的研究才刚刚起步,真正成功表达的还不多。我们曾研究了多形汉逊酵母细胞脂肪酸的生物合成^[4],并正利用这一系统表达重组水蛭素。本文综述多形汉逊酵母表达系统的最新研究结果,并与人们较为熟悉的巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*)作一比较。

1 宿主菌的生物学特性

多形汉逊酵母是一种耐热酵母,最适生长温度为 37~43℃(其它甲醇酵母为 30℃),最高生长温度达 49℃。它体内含有一特殊的甲醇代谢途径。此途径的第一步是在甲醇氧化酶(MOX)的催化下将甲醇氧化成甲醛和 H₂O₂。产生的

甲醛可在甲醛脱氢酶(FMD)和甲酸脱氢酶的作用下进一步氧化成 CO₂,也可在二氢丙酮合成酶(DHAS)等的作用下通过木酮糖单磷酸途径生成碳水化合物^[5],成为细胞物质。另一产物 H₂O₂则在过氧化物酶的作用下形成 H₂O 和 O₂。

甲醇代谢途径的关键酶 MOX、FMD 和 DHAS 的表达受阻遏/解阻遏机制的调控。乙醇及高浓度的葡萄糖和甘油阻遏基因表达,甲醇及低浓度甘油(0.3%)和葡萄糖(0.1%)能解除阻遏,使相关酶得到一定程度的表达^[6,7,8]。甲醇是最能解除阻遏作用的底物,但以甲醇为唯一的碳源和能源时细胞生长速率较低,外源基因的产量也低。其它碳源如低浓度甘油和葡萄糖,虽然只能起部分解阻遏作用,外源基因的产量有时会很^[6,9]。

多形汉逊酵母细胞中,MOX、DHAS 和过氧化物酶贮存于过氧化物体。细胞以葡萄糖为碳源时,过氧化物体的体积约占酵母细胞总体积的 1%。细胞以甲醇为碳源时,相关的酶大量合成,过氧化物体急剧膨胀,其体积可达酵母细胞总体积的 80%^[3,10]。此系统表达外源蛋白时,合成的蛋白质可贮存在过氧化物体中,避免对细胞产生毒害且免受蛋白酶降解。

2 基因工程操作技术

2.1 表达载体的构建

多形汉逊酵母的表达载体多为穿梭质粒,主要包括启动子、MOX 基因的终止子、启动子和终止子中间的多克隆位点、大肠杆菌复制原点以及用于在大肠杆菌和酵母中筛选转化子的标记基因。此外还含有自主复制序列 ARS 或 HARS^[11]。有些 HARS 序列如 HARS36 不仅利于质粒的染色体外扩增,还可提高转化和整合的效率,便于高拷贝转化子的筛选^[12]。

作为强启动子,MOX、FMD 和 DHAS 基因的启动子常被

用来调控外源基因的表达。它们受甲醇的强诱导,受葡萄糖和乙醇阻遏,但在低浓度甘油或葡萄糖中可解阻遏。由于有相似的调控机制,巴斯德毕赤酵母的醇氧化酶(AOX1)基因启动子,也可以用来调控多形汉逊酵母中基因的表达^[13,14]。另外,胺氧化酶(AMO)基因启动子、3种硝酸吸收基因(YNT1、YNT11和YNR1)的启动子以及最近从多形汉逊酵母中分离的PHO1基因启动子亦有应用^[15]。

酵母表达系统的建立依赖于营养缺陷型的宿主细胞,目前已建立了多形汉逊酵母的*leu*、*ura*、*trp*和*ade*突变细胞,因此载体中应携带内源的LEU1、URA3、TRP3和ADE11基因,来源于酿酒酵母的LEU2和URA3或来源于白假丝酵母(*Candida albicans*)的LEU2等外源基因,以互补宿主相应的营养缺陷。另外,以抗G418、抗腐草酸素(Phleomycin)或抗Zeocin的基因作为强选择标记,在多形汉逊酵母表达系统中也已获得成功^[15]。外源蛋白的表达可分为胞内积累和胞外分泌两种。分泌型表达载体除含有上述部件外,还含分泌信号序列。对于HAS、牛溶血酶和转化酶基因等,其自身的信号肽序列就足以引导在甲醇酵母中表达,对于自身没有信号序列或自身的信号肽序列不能在酵母中起作用的蛋白基因,则需将此基因与酿酒酵母 α -交配因子(MF α 1)、西方吐旺酵母(*Schwanniomyces occidentalis*)葡萄糖淀粉酶GAM1基因、三叶真蟹(*Carcinus maenas*)高血糖激素基因、黑色曲霉(*Aspergillus niger*)GAM基因或乳克鲁维酵母(*Kluyveromyces lactis*)杀伤毒素基因的先导序列融合^[21]。

2.2 转化与整合

转化多形汉逊酵母的方法主要有原生质体法、锂法和电穿孔法3种。原生质体法转化时需先分离细胞的原生质体,再在PEG等的作用下将DNA导入,外源基因整合到染色体上的拷贝数随细胞的不同而不同。此法的转化效率一般较高。用锂法转化时,先用锂离子处理酵母细胞,再用PEG和热击作用将DNA导入,操作简单,但转化效率低,外源基因整合到染色体上的拷贝数也低。电转化法是一种转化效率高(1.7×10^6 /g DNA),外源基因常以多拷贝整合的方法。转化时酵母细胞先用无菌水冲洗数次以除去残留在细胞表面影响转化率的物质,再用二硫苏糖醇处理,最后用电穿孔仪将DNA导入细胞。转化效率除受转化方法影响外,还受细胞生长期、DNA浓度、受体菌株等因素影响^[16]。一般来说,线性化质粒的转化效率较环状质粒高,细胞处于对数生长期的转化效率较处于其它时期的高^[16,17]。

自主复制型质粒转化多形汉逊酵母细胞后,可在细胞中自主复制,有的多个拷贝以串联的形式形成多联体。这些质粒的遗传性质不稳定,在非选择性培养基中生长一段时间后质粒消失或整合到染色体上^[17,18]。线性化的质粒易整合,形成减数分裂稳定的整合型转化子。多形汉逊酵母中外源基因的整合多为非同源重组整合(约占50%~80%),且往往是以串联的形式整合多个拷贝(100或更多),这为筛选高拷贝转化子提供了方便^[17,19]。这种整合方式在其它甲醇酵母中尚未发现,目前还不清楚整合的机制。质粒也可通过单交换

或双交换与染色体上的同源位点发生重组,定点整合到染色体的同源位点。线性化质粒发生同源整合的频率仅为1%~22%,这可能是因为在多形汉逊酵母中存在着双链缺口(DSB)修复系统,它能以非同源重组的方式使线性质粒重新环化,从而使质粒能够进行复制。这种修复系统的准确率可达50%~68%^[17]。

2.3 高拷贝转化子的筛选

多数蛋白质的表达存在基因剂量效应,筛选高拷贝数的重组菌往往能提高外源蛋白的产量^[19,20]。拷贝数常用Southern杂交的方法,根据杂交信号的强弱来确定^[6,19]。多形汉逊酵母多以酿酒酵母的LEU2或URA3基因作为选择标记,它们不仅能互补宿主菌的营养缺陷,还能提高外源基因整合到染色体上的拷贝数。将携带酿酒酵母URA3基因的质粒转化到尿嘧啶(*ura*)营养缺陷型多形汉逊氏菌株中,质粒以一种不稳定的形式复制,可能是因为URA3基因中含有ARS序列。有些重组菌在非选择压力下生长一段时间后,复制型质粒消失,质粒(或表达盒)整合到染色体中与URA3非同源的位点上并以串联的方式形成单个或多个拷贝。在选择性培养基上高拷贝的转化子形成大的菌落而单拷贝转化子菌落较小。这可能是因为酿酒酵母的URA3基因不能完全互补多形汉逊酵母的尿嘧啶营养缺陷。至于是单拷贝的质粒先整合然后其它质粒再整合到同一位点,还是质粒先形成多联体后再发生整合尚不清楚。用多形汉逊酵母表达重组血红蛋白(rHbA)并以酿酒酵母LEU2基因为选择标记时也发现类似现象^[3]。

除以上所说的利用URA3和LEU2基因筛选的转化子多为高拷贝外,利用对G418^[2,21]和腐草酸素^[22]的抗性,通过逐步增加抗生素的浓度,也能快速筛选高拷贝转化子。

3 发 酵

培养基中细胞浓度与外源基因的表达量相关,在很大范围内细胞浓度越高,产量也越高^[9,23]。多形汉逊酵母在廉价的合成或半合成培养基上容易进行高密度发酵,菌体密度可达100~130g/L菌液^[7,19],因此外源基因的表达量较高。此外,该酵母的生长温度高,生长速率快,大规模发酵时培养时间短、污染率低,还容易进行冷却处理。因此,多形汉逊酵母非常适合于大规模的工业化生产。

除温度外,影响细胞生长和外源基因表达的培养条件还有培养基的无机盐成分、发酵液的pH值、通气量、蛋白胨和酪蛋白水解物等营养成分以及碳源的添加策略等。不同外源基因的发酵条件不尽相同,发酵时应对各指标进行优化。

现在多形汉逊酵母的发酵一般以甘油或甘油与甲醇的混合物为主要碳源。这些底物连续灌注或批量加入都能使外源蛋白高效表达^[6,19]。由于外源蛋白的表达量在很大范围内与细胞浓度成正比,故一般采用两步法,即先用阻遏性碳源使细胞生长到一定浓度后,再向培养基中添加解阻遏碳源来启动外源基因表达。因多形汉逊酵母的MOX和FMD启动子可在低浓度甘油中解阻遏,故也可采用一步法发酵

即用单一碳源甘油来支持细胞生长和外源蛋白的表达。Weydemann 等^[9]在用多形汉逊酵母生产水蛭素时就采用了单一碳源发酵策略。他们先让酵母在 3% 的甘油中生长至干重为 25g/L,待碳源消耗完后,再将甘油控制在很低的浓度以启动外源基因表达。发酵 70h 后,水蛭素在培养基中的浓度可达到 1g/L 以上。用甘油作碳源,操作简单,表达量也可以达到很高,但甘油的成本较高,这对于要求低消耗的工业化生产有一定的局限性。1999 年 Mayer 等^[6]发展了一种新的发酵方法,即在分批培养(Batch phase)时用甘油,而在补料分批培养(Fed-batch phase)时用葡萄糖作碳源,用此方法生产植酸酶的产量高,成本低。

4 外源基因的高效表达

至今多形汉逊酵母已成功表达了许多外源基因。表达的外源蛋白可分泌到细胞外,也可在细胞质内或过氧化物体中积累。多形汉逊酵母中外源蛋白的表达量很高,现已发表的胞外表达的最高产量是黑色曲霉葡萄糖氧化酶,为 2.25g/L。其它的外源蛋白如人血清白蛋白、西方许旺酵母葡糖淀粉酶以及水蛭素的产量都在 1.0~1.8g/L 之间。应用这一系统生产的胞内表达的外源蛋白的产量更高。其中最突出的例子是破伤风毒素 C 片段和植酸酶,分别为 12g/L 和 13.5g/L^[6]。通常在细胞质内表达的外源蛋白及没有或含有少数几个二硫键的分泌蛋白可选用胞内表达系统^[1]。有些蛋白质易降解或对细胞有毒性,则可通过定位到过氧化物体内以提高其产量和稳定性,或将其分泌到胞外以避免对细胞产生毒害作用。分泌表达的另一优点是分离纯化外源蛋白的下游处理工艺简单,因为多形汉逊酵母很少分泌内源蛋白到胞外,外源蛋白一般占细胞总分泌蛋白的 90% 以上^[7]。另外,外源蛋白通过分泌途径可完成蛋白水解成熟、糖基化和二硫键形成等翻译后加工过程^[1]。

外源基因除了与信号肽序列融合以引导蛋白质分泌外,还可和其它基因序列融合。有些蛋白质由于细胞内蛋白酶的降解作用或由于对细胞有毒害作用,表达时产量很少或很快被降解,通过其基因与其它基因融合有时可解决这一问题。如人类胰岛素生长因子 II(IGF-II)、滑爪蟾(*Xenopus laevis*)体内的抵御微生物侵染的爪蟾抗菌肽(magainin-II),在重组菌中表达时会对宿主细胞造成严重毒害,难以生产。将它们的基因与过氧化物体胺氧化酶(AMO)基因融合并在氨基端加上 SKI(PTS1)序列,可将重组蛋白定位到过氧化物体中,从而减轻重组蛋白的毒害作用^[10]。

此外还可共同表达多个基因。方法之一为将多个表达盒构建在一个载体中,转化酵母细胞后实现共表达。用这一方法,现已成功地表达了由两条 α 珠蛋白和两条 β 珠蛋白组成的人血红蛋白。此法操作简单,但构建的质粒不稳定,易发生重组,所有外源基因的表达量也只能相同。另一方法则是在连续的转化中将目的表达盒分别整合到染色体上。这是一种较有应用前途且较为适用的方法^[11]。Janowicz 等^[24]应用这一方法成功地在多形汉逊酵母中按一定比例表达了

乙型肝炎病毒的表面抗原 L 和 S。他们先用含 L-抗原基因的质粒转化细胞,挑选整合的拷贝数合适的重组菌,再通过二次转化转入 S-抗原基因,进一步筛选得到 L-抗原和 S-抗原表达量不同的且比例合适的菌株,从而生产出组成与天然病毒外壳相似的人工病毒颗粒。最近,在构建催化乙醇酸转化为乙醛酸的生物催化剂的多形汉逊酵母重组菌时,也用了类似的方法。这一转化反应由乙醇酸氧化酶催化。反应生成的 H_2O_2 必须被一合适的过氧化物酶除去。这两个酶必须以最佳比例存在。利用二次转化,构建了含 30 拷贝乙醇酸基因(GO)和 15~25 拷贝酿酒酵母过氧化物酶 T 基因(CIT1)的重组菌,实现了按比例高效表达^[21]。

5 多形汉逊酵母和巴斯德毕赤酵母的比较

多形汉逊酵母和巴斯德毕赤酵母都是高效的外源基因表达系统,有相似的特性。如都存在强的诱导型启动子,重组菌在非选择性培养基上减数分裂稳定,可进行大规模培养和发酵等。但它们也有差异。巴斯德毕赤酵母基因组中有两个拷贝的醇氧化酶基因(AOX1 和 AOX2),而多形汉逊酵母中仅一个拷贝的 MOX 基因。构建巴斯德毕赤酵母重组菌时通常使外源 DNA 通过同源重组整合到 HIS4 基因或其中一个 AOX 基因中,多数情况下只能整合单拷贝的外源序列,多拷贝整合的概率仅为 1%~10%;而多形汉逊酵母可通过非同源重组(机率约为 50%~80%)整合多个拷贝的外源基因,拷贝数可达 100 以上^[19,22]。目前人们已构建了 *wra3*、*his3*、*leu2*、*trp3* 和 *ade11* 等多个营养缺陷型多形汉逊酵母菌株,而常用的营养缺陷型巴斯德毕赤酵母菌株只有 *his4*,因此基因工程时有更多的多形汉逊酵母宿主细胞供选择。

二者在甲醇代谢途径关键酶基因的调控机制上也有差异。巴斯德毕赤酵母受阻遏/诱导机制的调控,即葡萄糖和甘油等常规碳源阻遏蛋白的表达,甲醇是唯一诱导相关蛋白高水平表达的碳源;多形汉逊酵母细胞中存在着阻遏/解阻遏机制,在低浓度甘油或葡萄糖中生长的细胞也能高效表达外源基因。细胞在甘油/甲醇的混合物或仅在甘油中生长,外源基因可高效表达,避免了两步发酵的烦琐操作,以葡萄糖为碳源则可大大降低成本。

多形汉逊酵母的最适生长温度高,生长速率快,利于大规模发酵生产。由于多形汉逊酵母能够按一定的基因剂量比分步整合多个基因,重组菌可按最佳的化学计量比生产酶以生成高效的生物催化剂,这在其它甲醇酵母中未见报道。

6 结 语

综上所述,多形汉逊酵母具遗传操作简单、外源蛋白产量高、易于工业化生产等特点,是一个优于大肠杆菌和其它酵母的外源基因表达系统,已得到广泛关注。用它生产的重组乙型肝炎病毒疫苗已投入市场,其它一些医药产品如水蛭素已进入临床实验阶段,有望在不久的将来成为商品。随着研究的逐步深入和工业化生产技术的提高,相信这一系统会有更加广阔的应用前景。

REFERENCES (参考文献)

- [1] Eckart M R ,Bussineau C M. Quality and authenticity of heterologous proteins synthesized in yeast. *Curr Opin Biotechnol* ,1996 ,7(5) :525 ~ 530
- [2] Hollenberg C P ,Gellissen G. Production of recombinant proteins by methylotrophic yeast. *Curr Opin Biotechnol* ,1997 ,8(5) :554 ~ 560
- [3] Sudbery P E. The Expression of recombinant proteins in yeasts. *Curr Opin Biotechnol* ,1996 ,7(5) :517 ~ 524
- [4] Lu S F ,Tolstorukov I I ,Anamart S *et al* . Cloning ,sequencing ,and functional analysis of H-OLE1 gene encoding delta9-fatty acid desaturase in *Hansenula polymorpha* . *Appl Microbiol Biotechnol* ,2000 ,54(4) :499 ~ 509
- [5] Ledebuer A M ,Edens L ,Maat J *et al* . Molecular cloning and characterization of a gene coding for methanol oxidase in *Hansenula polymorpha* . *Nucleic Acids Res* ,1985 ,13(9) :3063 ~ 3092
- [6] Mayer A F ,Hellmuth K ,Schlieker H *et al* . An expression system matures a highly efficient and cost-effective process for phytase production by recombinant strains of *Hansenula polymorpha* . Progress in developing methylotrophic yeasts as expression systems. *Biotechnol Bioeng* ,1999 ,63(3) :373 ~ 381
- [7] Gellissen G ,Weydemann U ,Strasser A W *et al* . Progress in developing methylotrophic yeasts as expression systems. Optimisation of a host/vector system for heterologous gene expression by *Hansenula polymorpha* . *Trends Biotechnol* ,1992 ,10(12) :413 ~ 417
- [8] Sierkstra L N ,Verbakel J M A ,Verrips C T. Optimisation of a host/vector system for heterologous gene expression by *Hansenula polymorpha* . *Curr Genet* . 1991 ,19(2) :81 ~ 87
- [9] Weydemann U ,Keup P ,Piontek M ,Strasser A W *et al* . High-level secretion of hirudin by *Hansenula polymorpha* authentic processing of three different preprohirudins. *Appl Microbiol Biotechnol* ,1995 ,44(3 ~ 4) :377 ~ 385
- [10] Faber K N ,Westra S ,Waterham H R *et al* . Foreign gene expression in *Hansenula polymorpha* a system for the synthesis of small functional peptides. *Appl Microbiol Biotechnol* ,1996 ,45(1-2) :72 ~ 79
- [11] Gellissen G ,Hollenberg C P. Application of yeasts in gene expression studies a comparison of *Saccharomyces cerevisiae* ,*Hansenula polymorpha* and *Kluyveromyces lactis*-a review. *Gene* ,1997 ,190(1) :87 ~ 97
- [12] Sohn J H ,Choi E S ,Kim C H. A novel autonomously replicating sequence(ARS) for multiple integration in the yeast *Hansenula polymorpha* DL-1. *J Bacteriol* ,1996 ,178(5) :4420 ~ 4428
- [13] Raschke W C ,Neiditch B R ,Hendricks M *et al* . Inducible expression of a heterologous protein in *Hansenula polymorpha* using the alcohol oxidase 1 promoter of *Pichia pastoris* . *Gene* ,1996 ,177(1-2) :163 ~ 167
- [14] Rodriguez L ,Narciandi R E ,Roca H *et al* . Invertase secretion in *Hansenula Polymorpha* under the AOX1 promoter from *Pichia pastoris* . *Yeast* ,1996 ,12(9) :815 ~ 822
- [15] Dijk V ,Faber K N ,Kiel J A. The methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha* a versatile cell factory. *Enzyme Microb Technol* ,2000 ,26(9 ~ 10) :793 ~ 800
- [16] Faber K N ,Haima P ,Harder W *et al* . Highly-efficient electrotransformation of the yeast *Hansenula polymorpha* . *Curr Genet* ,1994 ,25(4) :305 ~ 310
- [17] Faber K N ,Swaving G J ,Faber F *et al* . Chromosomal targeting of replicating plasmids in the yeast *Hansenula polymorpha* . *J Gen Microbiol* ,1992 ,138(Pt11) :2405 ~ 2416
- [18] Gatzke R ,Weydemann U ,Janowicz Z A *et al* . Stable multicopy integration of vector sequences in *Hansenula polymorpha* . *Appl Microbiol Biotechnol* ,1995 ,43(5) :844 ~ 849
- [19] Gellissen G ,Janowicz Z A ,Weydemann U *et al* . High-level expression of foreign genes in *Hansenula polymorpha* . *Biotechnol Adv* ,1992 ,10(1) :179 ~ 189
- [20] Sreekrishna K ,Brankamp R G ,Krop K E *et al* . Strategies for optimal synthesis and secretion of heterologous proteins in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris* . *Gene* ,1997 ,190(1) :55 ~ 62
- [21] Gellissen G ,Piontek M ,Dahlems U *et al* . Recombinant *H. polymorpha* as a biocatalyst-coexpression of the spinach glycolate oxidase (GO) and the *S. cerevisiae* catalase (CTT1) gene. *Appl Microbiol Biotechnol* ,1996 ,46(1) :46 ~ 54
- [22] Zurek C ,Kubis E ,Keup P *et al* . Production of two aprotinin variants in *H. polymorpha* . *Process Biochem* ,1996 ,31(7) :679 ~ 689
- [23] Gellissen G ,Janowicz Z A ,Merckelbach A *et al* . Heterologous gene expression in *Hansenula polymorpha* efficient secretion of glucoamylase. *Biol Technology* ,1991 ,9(3) :291 ~ 295
- [24] Janowicz Z A ,Melber K ,Merckelbach A *et al* . Simultaneous expression of the S and the L surface antigens of hepatitis B and formation of mixed particles in the methylotrophic yeast *H. polymorpha* . *Yeast* ,1991 ,7(5) :431 ~ 443

Advances in the Expression of Foreign genes in *Hansenula Polymorpha*CHEN Feng-Ju^{1,2} LU Shan-Fa¹ HU Dun-Xiao²¹(Institute of Botany , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100093 , China)²(Plant Protection College , China Agricultural University , Beijing 100094 , China)

Abstract *Hansenula polymorpha* is a potential host for foreign gene expression ,which has been applied widely in academic studying and industry application . It has a number of advantages of expressing genes derived from eukaryotic organisms ,such as mitotically stable recombinant strains ,faithful processing of the produced polypeptides ,and high productivity *et al* . Numerous foreign proteins with high commercial value have been expressed successfully in *H. polymorpha* ,among which some have been launched on the market . In this review ,the favorable characteristics of this system for foreign gene production and new advances are described .

Key words *Hansenula polymorpha* ,methylotrophic yeast ,foreign gene expression

Received :October 9 ,2000

* Corresponding author . Tel :86-10-62591431 ex6208 ; Fax :86-10-62590833 ;E-mail :lushanfa@hotmail.com

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn