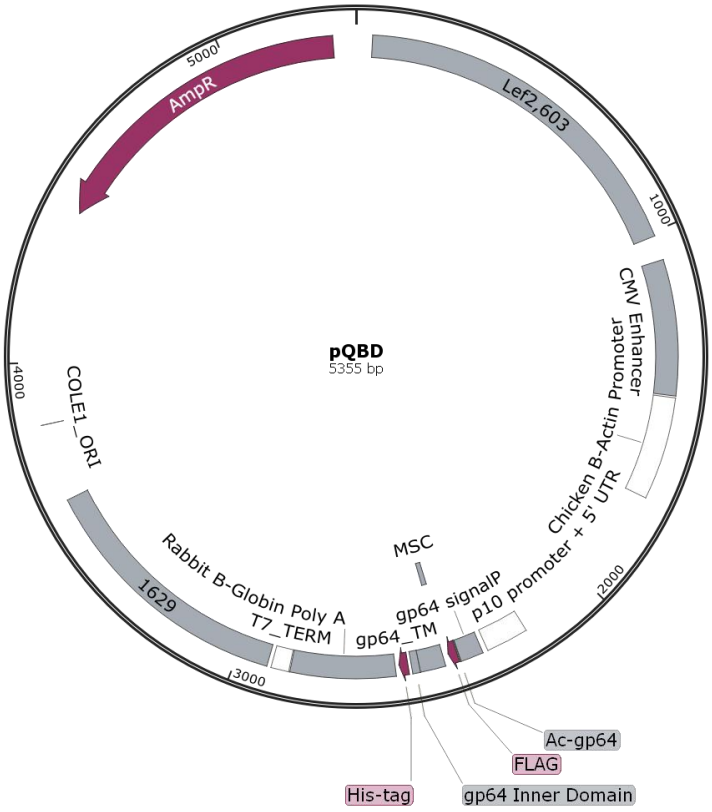
pQBD Vector

pQBD 序列特征

CMV enhancer region	1079-1443
Chicken action promoter region	1449-1726
Vertebrate transcription start	1727
p10 promoter region	2205-2318
p10 transcription start	2249-2250
gp64 signal peptide	2333-2395
Multiple cloning sites	2423-2440
FLAG tag coding sequence	2399-2422
gp64 transmembrane domain	2438-2506
gp64 inner domain	2507-2527
Rabbit globin terminator region	2572-2854

pQBD 是为了将外源蛋白展示(Display)在杆状病毒囊膜表面而设计构建的。众所周知，杆状病毒可以广泛侵染其他种类的动物细胞（只侵染不复制）。我们利用这种特性，用杆状病毒表达载体将外源基因转运到被免疫的动物细胞内，使外源基因在动物体内表达，从而产生免疫反应（类似 DNA 疫苗）；而外源基因表达的蛋白是展示在病毒粒子表面的，用杆状病毒免疫的同时，展示的蛋白还可以作为亚单位疫苗而起作用。

pQBD 通过(Lef2,603)和 1629 序列与 Bacmid 同源重组，得到重组杆状病毒。重组杆状病毒感染昆虫细胞后在细胞内表达、复制。在感染晚期，p10 启动子开始启动转录，表达带有 gp64 信号肽和跨膜区的外源蛋白，这些蛋白与病毒编码的 gp64 一起被包装在杆状病毒粒子的囊膜表面。收集的重组杆状病毒可用于免疫动物（滴鼻、饲喂、注射）。病毒囊膜上展示的外源蛋白可作为亚单位疫苗刺激免疫系统产生免疫反应。重组杆状病毒也可以进入被免疫的动物细胞，释放病毒基因组 DNA。此时 CMV 增强子/鸡肌动蛋白启动子启动外源基因表达，产生细胞免疫反应。




```
                CAAT Box                Chicken action promoter                TATA box                    5'Cap
AGGTGCGGCGGCAGCCAATCAGAGCGGCGCGCTCCGAAAGTTTCCTTTTATGGCGAGGCGGCGGCGGCGGCGGCCCTATAAAAAGCGAAGCGCGCGGCGGGCGGGAGTCGCT
                                                                                          Intron
GCGCGCTGCCTTCGCCCCGTGCCCCGCTCCGCCGCCGCCTCGCGCCGCCCGCCCCGGCTCTGACTGACCGCGTTACTCCCACAGGT...258bp...AGCTCCT...TTAAT
           p10 promoter region                  p10 mRNA Initiation
CCGGGACCTTTAATTCAACCCAACACAATATATTATAGTTAAATAAGAATTATTATCAAATCATTTGTATATTAATTAAAATACTATACTGTAAATTACATTTTATTTACAA
                NcoI                                                          NheI/BmtI                          BamHI
                                          gp64 signal peptide                                FLAG tag
TCAAAGGAGATATACCATGGTAAGCGCTATTGTTTTATATGTGCTTTTGGCGGCGGCGGCGCATTCTGCCTTTGCGGCTAGCGACTACAAAGACGATGACGACAAGGGATCC
                 M--V--S--A--I--V--L--Y--V--L--L--A--A--A--H--S--A--F--A--A--S--D--Y--K--D--D--D--D--K--G--S--
        EcoRI                                                                                                XhoI
HindIII                                  gp64 transmembrane domain                          gp64 inner domain
AAGCTTGAATTCATGTTTGGTCATGTAGTTAACTTTGTAATTATATTAATTGTGATTTTATTTTTGTACTGTATGATTAGAAACCGTAATAGACAATATTAACTCGAGCACC
K--L--E--F--M--F--G--H--V--V--N--F--V--I--I--L--I--V--I--L--F--L--Y--C--M--I--R--N--R--N--R--Q--Y--*
ACCATCACCATCACCATCACTAAGTGATTAACCTCAGGTGCAGGCTGCCTATCAGAAGGTGGTGGCTGGTGTGGCCAATGCCCTGGCTCACAAATACCACTGAGATCGATCT
                                                                  polyA signal
TTTTCCCTCTGCCAAAAATTATGGGGACATCATGAAGCCCCTTGAGCATCTGACTTCTGGCTAATAAAGGAAATTTATTTTCATTGCAATAGTGTGTTGGAATTTTTTGTGT
```

pQBD 克隆/表达区