

黄粉虫抗菌肽TmAMP3在大肠杆菌中的高效表达及活性检测

唐馨, 毛新芳, 热西力·克来木, 刘忠渊

High-level expression and function assay of antimicrobial peptide TmAMP3 of *Tenebrio molitor* (Tenebrionidae, Coleoptera) in *Escherichia coli*

TANG Xin, MAO Xin-Fang, Kelaimu REXILI, LIU Zhong-Yuan

- 摘要
- 参考文献
- 相关文章

全文: PDF (10531 KB) HTML (1 KB) 输出: BibTeX | EndNote (RIS) 背景资料

摘要 昆虫抗菌肽具有广谱抗菌活性, 克隆黄粉虫 *Tenebrio molitor* 抗菌肽基因, 进行原核表达和活性检测, 为昆虫抗菌肽推广应用奠定一定基础。根据GenBank公布的黄粉虫抗菌肽序列设计特异引物, 以RT-PCR法从黄粉虫体内克隆了抗菌肽基因 TmAMP3, 将其亚克隆至 pET-30a 表达载体中, 转化到大肠杆菌 *Escherichia coli* BL21(DE3) 中进行原核表达, SDS-PAGE 检测融合蛋白的表达, 同时检测生物活性。结果表明我们成功构建了重组质粒 pET-30a-TmAMP3, 大部分目的蛋白呈可溶性分泌表达。经 Ni²⁺ 亲和层析, 获得较纯融合蛋白 HIS-TmAMP3, 诱导表达的融合蛋白使 BL21 转化菌生长受到一定程度的抑制。融合蛋白在 100℃ 煮沸 10 h、与 pH 2~12 的缓冲液混匀后, 依然保持稳定的抗菌活性, 具有较强的稳定性。同时检测了融合蛋白对 5 种菌株的最小抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC)。本研究为具有稳定活性抗菌肽进行大规模生产发酵提供了理论基础。

关键词: 黄粉虫 抗菌肽 高效表达 蛋白纯化 抗菌活性

Abstract: Insect antimicrobial peptides (AMPs) have wide antimicrobial spectrum. Cloning and prokaryotic expression of antimicrobial peptide TmAMP3 gene from *Tenebrio molitor* could provide a basis for further application of this antimicrobial peptide. TmAMP3 was amplified by RT-PCR using a pair of specific primers designed according to the relevant nucleotide sequence from GenBank. The gene TmAMP3 was subcloned directionally into the prokaryotic expression vector pET-30a and transformed into *Escherichia coli* BL21. After IPTG introduction, fusion protein was detected in the supernatant of lysates by SDS-PAGE and purified with nickel-nitrilotriacetic acid (Ni-NTA) metal-affinity chromatography matrices, and the fusion protein HIS-TmAMP3 was obtained. In the presence of IPTG, the growth of BL21 transformed by pET30a-TmAMP3 was inhibited. Under conditions of high temperature 100℃ for 10 h and strong acid or alkali, antibacterial activities of the fusion protein still existed. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the fusion protein against five bacterial strains was also detected. The experiment offers a theoretical foundation to produce antimicrobial peptides with stability on a large scale.

Key words: *Tenebrio molitor* antimicrobial peptide high-level expression protein purification antibacterial activity

收稿日期: 2011-02-21; 出版日期: 2011-10-20

基金资助:

新疆维吾尔自治区科技支疆项目 (200991130); 自治区自然科学基金项目 (200821120); 博士启动基金项目 (BS090126)

通讯作者: 刘忠渊 E-mail: lzy1168@gmail.com

作者简介: 唐馨, 女, 1987年生, 山东潍坊人, 硕士, 研究方向为生物化学与分子生物学, E-mail: tangxin75975@sina.com

引用本文:

唐馨, 毛新芳, 热西力·克来木等. 黄粉虫抗菌肽TmAMP3在大肠杆菌中的高效表达及活性检测[J]. 昆虫学报, 2011, 54(10): 1111-1117.

服务

- ▶ 把本文推荐给朋友
- ▶ 加入我的书架
- ▶ 加入引用管理器
- ▶ E-mail Alert
- ▶ RSS

作者相关文章

- ▶ 唐馨
- ▶ 毛新芳
- ▶ 热西力·克来木
- ▶ 刘忠渊

链接本文:

<http://www.insect.org.cn/CN/> 或 <http://www.insect.org.cn/CN/Y2011/V54/I10/1111>

没有本文参考文献

- [1] 查宏贤, 刘罡, 张晨, 王彦云, 卫正国, 李兵, 陈玉华, 许雅香, 沈卫德. 家蚕丝氨酸蛋白酶抑制剂4 (serpin-4) 的基因克隆、原核表达和多克隆抗体制备[J]. 昆虫学报, 2011, 54(6): 642-647.
- [2] 黄琼, 胡杰, 周定刚, 孙灵, 阮华波, 王孝妮, 陈刚, 朱天辉, 杨春平, 杨伟. 两种色型黄粉虫的生长发育、存活与饲料利用效率比较研究(英文)[J]. 昆虫学报, 2011, 54(3): 286-292.
- [3] 柳峰松, 孙玲玲, 唐婷, 王丽娜. 家蝇抗菌肽Attacin-2基因的克隆、序列分析和诱导表达[J]. 昆虫学报, 2011, 1(1): 1-.
- [4] 柳峰松, 孙玲玲, 唐婷, 王丽娜. 家蝇抗菌肽Attacin-2基因的克隆、序列分析和诱导表达[J]. 昆虫学报, 2011, 54(1): 27-33.
- [5] 陈杨, 凌尔军. 斯氏按蚊肽聚糖识别蛋白基因PGRP-LC1的克隆及功能分析[J]. 昆虫学报, 2010, 53(2): 131-138.
- [6] 刘守柱, 薛超彬, 罗万春. 黄粉虫幼虫体壁硬化过程中酚氧化酶活性的变化[J]. 昆虫学报, 2009, 52(9): 941-945.
- [7] 金丰良, 张呈文, 许小霞, 孙强, 任顺祥. 死亡素与泛素在大肠杆菌中的高效融合表达[J]. 昆虫学报, 2009, 52(5): 495-501.
- [8] 程廷才, 夏庆友, 许平震, 谭祥, 方婷, 向仲怀. 家蚕免疫相关基因和信号途径的鉴定和比较分析[J]. 昆虫学报, 2009, 52(3): 235-245.
- [9] 柳峰松, 王丽娜, 唐婷, 李伟. 家蝇抗菌肽Diptericin基因的克隆与分析[J]. 昆虫学报, 2009, 52(10): 1078-1082.
- [10] 张嵘, 张景海, LEE Bok Lue, 赵明沂, 王金春. 黄粉虫 β -1,3-葡聚糖识别蛋白的分离纯化及部分生物学功能[J]. 昆虫学报, 2009, 52(1): 27-32.
- [11] 韩冬, 邓小娟, 杨婉莹, 叶明强, 曹方, 黄亚东, 温硕洋, 曹阳, 夏庆友. 家蚕拟抗微生物肽Gloverins基因(BmgIv)的原核表达及抗菌活性鉴定[J]. 昆虫学报, 2008, 51(6): 561-568.
- [12] 陈维春, 宋杰, 庞义*. 斜纹夜蛾两个天蚕素D基因的克隆及序列分析[J]. 昆虫学报, 2007, 50(7): 745-749.
- [13] 陆婕, 钟雅, 柳林, 付康, 陈正望*. 家蝇蛆抗菌肽提取工艺研究[J]. 昆虫学报, 2007, 50(2): 106-112.
- [14] 刘守柱, 肖婷, 薛超彬, 罗万春. 槲皮素对黄粉虫血淋巴酚氧化酶的生理效应[J]. 昆虫学报, 2007, 50(12): 1201-1206.
- [15] 宋杰, 陈维春. 斜纹夜蛾Cecropin D成熟肽的原核表达及活性检测[J]. 昆虫学报, 2007, 50(12): 1207-1211.

版权所有 © 2010 《昆虫学报》编辑部

地址: 北京市朝阳区北辰西路1号院5号中国科学院动物研究所 邮编: 100101

电话: 010-64807173 传真: 010-64807099 E-mail: kcxb@ioz.ac.cn 网址: <http://www.insect.org.cn>

本系统由北京玛格泰克科技发展有限公司设计开发 技术支持: support@magtech.com.cn

京ICP备05064604号