

# 水稻生防菌株多粘类芽孢杆菌WY110抗菌蛋白的纯化及其基因克隆

姚乌兰<sup>2</sup>, 王云山<sup>3</sup>, 韩继刚<sup>2</sup>, 李潞滨<sup>4</sup>, 宋未<sup>1</sup>, ①

1. <sup>1</sup>  
首都师范大学生命科学学院<sup>2</sup>  
北京100037<sup>3</sup>

2. 河北大学生命科学学院<sup>4</sup>  
保定 071002<sup>5</sup>

3. 中国科学院过程工程研究所<sup>6</sup>  
北京 100080<sup>7</sup>

4. 中国林业科学院林业研究所<sup>8</sup>  
国家林业局林木培育实验室<sup>9</sup>  
北京 100091<sup>10</sup>

收稿日期 修回日期 网络版发布日期 接受日期

**摘要** 通过DEAE-Sephadex A-50离子交换层析和Sephacryl S-200分子筛层析并采用抑菌活性和SDS-PAGE跟踪检测, 从多粘类芽孢杆菌 (*Paenibacillus polymyxa*) WY110菌株中分离纯化到一种对稻瘟病菌具有拮抗活性的抗菌蛋白P2 (分子量约26 kDa)。平板抑菌试验表明, 在PDA培养基上1.5 mg 纯化的P2蛋白即可有效地抑制稻瘟病菌菌丝生长, 并对所测试的稻瘟病菌不同菌株均表现出抑菌活性。对P2蛋白的N-端测序结果表明, N-末端24个氨基酸序列为H2N-Ala-Asn-Val-Phe-Trp-Glu-Pro-Leu-Ser-Tyr-Tyr-Asn-Pro-Ser-Thr-Trp-Gln-Lys-Ala-Asp-Gly-Tyr-Ser-Asn-。以此为靶序列在网上用BLASTP程序对蛋白质序列数据库进行了类似性检索, 发现其与来源于芽孢杆菌的b-1, 3-1, 4-葡聚糖酶前体具有很高的同源性。进一步用此酶的特异底物地衣多糖进行了定性检测, 验证了P2蛋白具有b-1, 3-1, 4-葡聚糖酶的活性。在此基础上, 根据P2蛋白N-末端氨基酸序列及此酶C-端保守性序列设计合成了两端引物, 以WY110基因组DNA为模板, 通过PCR高保真扩增获得了P2蛋白编码基因的全序列, 并克隆到pMD18-T载体上。核苷酸序列分析表明, 其5' 端72个核苷酸序列与蛋白N-端已知的24个氨基酸序列完全吻合, 序列全长为636 bp (GenBank登录号: AF284449), 编码212个氨基酸; 与已报道的一例来源于*Paenibacillus polymyxa*的b-1, 3-1, 4-葡聚糖酶基因 (*gluB*) 相比, 核苷酸和氨基酸序列同源性分别为84%和88.7%。b-1, 3-1, 4-葡聚糖酶具有抗稻瘟病菌活性尚未见报道。P2蛋白编码基因的克隆为水稻抗病基因工程提供了有潜在应用价值的新的目的基因。

**关键词** [多粘类芽孢杆菌](#) [稻瘟病菌](#) [抗菌蛋白](#) [b-1](#) [3-1](#) [4-葡聚糖酶](#) [基因克隆](#)

分类号

1.College of Life Sciences; Capital Normal University; Beijing 100037; China; 2. College of Life Sciences; Hebei University; Baoding 071002; China; 3. Institute of Process Engineering; Chinese Academy of Sciences; Beijing 100080; China; 4. Laboratory of Silviculture of State Forestry Administration; Research Institute of Forestry; Chinese Academy of Forestry; Beijing 100091; China

## Abstract

**Key words** [Paenibacillus polymyxa](#) [Piricularia oryzae](#) [antifungal protein](#) [b-1](#) [3-1](#) [4-glucanase](#) [gene cloning](#)

DOI:

## 扩展功能

### 本文信息

- ▶ [Supporting info](#)
- ▶ [PDF\(512KB\)](#)
- ▶ [\[HTML全文\]\(0KB\)](#)
- ▶ [参考文献](#)

### 服务与反馈

- ▶ [把本文推荐给朋友](#)
- ▶ [加入我的书架](#)
- ▶ [加入引用管理器](#)
- ▶ [复制索引](#)
- ▶ [Email Alert](#)
- ▶ [文章反馈](#)
- ▶ [浏览反馈信息](#)

### 相关信息

- ▶ [本刊中 包含“多粘类芽孢杆菌”的相关文章](#)
- ▶ 本文作者相关文章

- [姚乌兰](#)
- [王云山](#)
- [韩继刚](#)
- [李潞滨](#)
- [宋未](#)

