

预防兽医

牛分枝杆菌哺乳动物细胞侵袭蛋白4E的原核表达、纯化及其圆二色谱分析

徐广贤,赵德明,周向梅,尹晓敏,杨建民

中国农业大学动物医学院 国家动物传染性海绵状脑病实验室, 北京 100094

收稿日期 修回日期 网络版发布日期 接受日期

摘要 为了阐明牛分枝杆菌侵入宿主细胞和在肺泡巨噬细胞长期存活的机理,本研究以牛分枝杆菌的DNA为模板,通过PCR的方法扩增克隆牛分枝杆菌哺乳动物细胞侵袭蛋白4E(Mammalian cell-entry protein 4E, mce4 E)基因,将所扩增基因克隆于原核表达载体pET30a(+)并进行测序,结果显示该基因与GenBank上所公布的牛分枝杆菌和人分枝杆菌mce4 E基因同源率为100%。将重组表达载体转入宿主菌BL21进行诱导表达,表达蛋白经SDS-PAGE分析和Western-blotting免疫印迹鉴定,结果证明目的蛋白获得高效表达,表达量占菌体总量的53.3%,分子量约为45 ku; 利用Ni-NTA琼脂糖柱对表达蛋白进行纯化,纯化率大于95%;纯化的蛋白经过透析复性、圆二色谱(CD)测定,结果表明重组蛋白为典型的 α 螺旋型结构,经Jascow32软件分析计算,mce4E蛋白含有39.1%的 α 螺旋,60.9%的无规卷曲,无 β -折叠和转角,为进一步开展牛分枝杆菌致病机理的研究和寻找新的药物作用靶位点奠定了基础。

关键词 [牛分枝杆菌; 哺乳动物细胞侵入蛋白; 原核表达; 圆二色谱\(CD\)](#)

分类号

DOI:

通讯作者:

作者个人主页: 徐广贤; 赵德明; 周向梅; 尹晓敏; 杨建民

扩展功能

本文信息

▶ [Supporting info](#)

▶ [PDF\(980KB\)](#)

▶ [\[HTML全文\]\(0KB\)](#)

▶ [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](#)

▶ [引用本文](#)

▶ [Email Alert](#)

▶ [文章反馈](#)

▶ [浏览反馈信息](#)

相关信息

▶ [本刊中包含“牛分枝杆菌; 哺乳动物细胞侵入蛋白; 原核表达; 圆二色谱\(CD\)”的相关文章](#)

▶ [本文作者相关文章](#)

· [徐广贤](#)

· [赵德明](#)

· [周向梅](#)

· [尹晓敏](#)

· [杨建民](#)