

畜牧·资源昆虫

荷斯坦牛中性粒细胞防御素BNBD12基因克隆、原核表达及其抗菌活性分析

武建明,王长法,何洪彬,胡桂学,杨宏军,杨少华,高运东,仲跻峰

(山东省农业科学院奶牛研究中心)

收稿日期 2009-4-25 修回日期 2009-9-22 网络版发布日期 2010-1-15 接受日期 2010-1-25

摘要

**【目的】**实现荷斯坦牛中性粒细胞防御素BNBD12基因在大肠杆菌中的高效表达,并分析重组BNBD12的抗菌活性。**【方法】**RT-PCR扩增荷斯坦牛中性粒细胞BNBD12基因,序列分析后人工合成了适于在大肠杆菌中表达的BNBD12成熟肽,构建原核表达载体pET32a(+)/BNBD12,并在大肠杆菌BL21(DE3)中诱导表达。通过琼脂扩散法分别确定重组蛋白对牛源乳腺炎主要致病菌革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的抗菌效果,应用扫描电镜观察重组蛋白的杀菌效应。**【结果】**测序结果表明扩增片段长度为180 bp,可编码含60个氨基酸的成熟蛋白。SDS-PAGE和Western blotting分析显示人工合成的BNBD12的成熟肽基因以融合蛋白形式表达,表达量占菌体总蛋白的21.4%;纯化的重组蛋白0.05 mg·mL<sup>-1</sup>对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌有明显抑菌效果;扫描电镜观察发现重组蛋白作用后可引起病原菌内容物外泄而死亡。**【结论】**成功表达了荷斯坦牛中性粒细胞β-防御素12,该重组蛋白既可作用于革兰氏阳性菌又可作用于革兰氏阴性菌,显示出较好的临床应用前景。

关键词 [β-防御素12 \(BNBD12\)](#) [荷斯坦牛](#) [表达](#) [抗菌活性](#) [乳腺炎](#)

分类号

DOI:

通讯作者:

王长法, 何洪彬 [wcf1967@yahoo.com.cn](mailto:wcf1967@yahoo.com.cn), [hongbinh@hotmail.com](mailto:hongbinh@hotmail.com)

作者个人主页:

武建明;王长法;何洪彬;胡桂学;杨宏军;杨少华;高运东;仲跻峰

#### 扩展功能

本文信息

▶ [Supporting info](#)

▶ [PDF \(717KB\)](#)

▶ [\[HTML全文\] \(0KB\)](#)

▶ [参考文献\[PDF\]](#)

▶ [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](#)

相关信息

▶ [本刊中 包含“β-防御素12 \(BNBD12\)” 的相关文章](#)

▶ 本文作者相关文章

· [武建明,王长法,何洪彬,胡桂学,杨宏军,杨少华,高运东,仲跻峰](#)