

# 酵母菌中表达的新疆家蚕抗菌肽(Cecropin-XJ)的特性研究

刘忠渊 张富春\* 蔡伦 赵干 王宾

(新疆大学生命科学与技术学院 新疆生物资源基因工程重点实验室 乌鲁木齐 830046)

**摘 要** 研究酵母菌中表达的新疆家蚕抗菌肽(Cecropin-XJ)的抗菌特性。根据琼脂孔穴扩散法,检测抗菌肽的热稳定性、抑菌效价、对氨苄青霉素抗性菌的抑菌作用,并检测了抗菌肽对酸碱盐、人造胃液的耐受性及其抗菌谱。结果显示新疆家蚕抗菌肽具有很强的热稳定性、能够杀灭氨苄青霉素抗性菌、对酸碱盐、人造胃酸有一定的耐受性,其杀菌活力为 1mg 抗菌肽与 1200U 的氨苄青霉素杀菌活力相当。新疆家蚕抗菌肽能够不同程度地杀灭革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌,这一发现将为抗菌肽在农业、医疗卫生、畜牧业等方面的应用奠定基础,同时为深入研究抗菌肽作用机制提供了依据。

**关键词** 新疆家蚕抗菌肽 抗菌活性 热稳定性 抑菌效价 人造胃液 抗菌谱

**中图分类号** Q939.92 **文献标识码** A **文章编号** 1001-6209(2003)05-0635-07

高等生物都有一套防御机制来保护自身免受细菌的侵害。昆虫虽然没有抗体、补体的参与,但却拥有一个与人类天然免疫系统相当的自我防御系统<sup>[1]</sup>。昆虫抗菌肽具有在体外抑制细菌的活性,是昆虫防御微生物感染的第一道防线<sup>[2,3]</sup>。抗菌肽不仅对一些革兰氏阳性菌及阴性菌有很高的抗菌活力,甚至能杀死抗多种抗生素的致病性的乙酸钙不动杆菌<sup>[4]</sup>,并且对真菌、原虫、某些病毒和一些肿瘤细胞<sup>[5]</sup>也有明显的杀伤作用。值得一提的是抗菌肽对真核细胞几乎没有破坏作用,仅作用于原核细胞及发生病变的真核细胞<sup>[6]</sup>,对高等动物机体正常细胞无损伤。实验表明,抗菌肽无致畸变作用、无蓄积毒性,且不容易产生抗药性<sup>[7]</sup>。在面临抗药性和筛选新的抗生素极端困难的情况下,昆虫抗菌肽可能成为抗生素的新来源,可望成为新一代的抗菌、抗病毒、抗癌药物。

本实验室克隆了新疆家蚕抗菌肽(Cecropin-XJ)基因,并通过酵母系统表达了抗菌肽(已申请专利,专利正在受理中);本文是在此基础上,进一步研究抗菌肽的性质及其杀灭细菌的情况,从而对抗菌肽抗细菌的特性进行一些探讨。

## 1 材料和方法

### 1.1 抗菌肽

抗菌肽 Cecropin-XJ 为本实验室通过提取新疆家蚕总 RNA 并进行 RT-PCR 获得的抗菌肽 cDNA 分子,通过与 GenBank 中已发表抗菌肽序列进行对比分析,表明所克隆基因为

基金项目 国家科技攻关《新疆特殊环境生物资源的研究与开发利用》(2001BA901A32)

\* 通讯作者。Tel 86-991-8583259; Fax 86-991-8583259; E-mail zfc@xju.edu.cn

作者简介 刘忠渊(1972-)男,山东人,讲师,硕士,研究方向为分子生物学及基因工程。E-mail lzyl168@163.com

收稿日期 2002-12-11, 修回日期:2003-05-08

一新的抗菌肽基因。将 Cecropin-XJ 亚克隆至穿梭质粒 pGAPZ $\alpha$  A 上,转化酵母所表达的产物。浓度为 330mg/mL,其分子量理论值为 7kD,酵母表达系统所表达的产物为 17.5kD,大于理论值,且在水溶液中常以二聚体的形式存在。Cecropin-XJ 氨基酸序列与 GenBank 中的同源比较,下划横线部分为不同氨基酸部位:

Cecropin-XJ :MNFAKILFFVFALVLAALSMTSAAPEPRWKIFKKIEKMGRNIRDGIVKAGPAIEVLGSAKAIGK  
 Gi1705754 :MNFAKILSFVFALVLAALSMTSAAPEPRWKIFKKIEKMGRNIRDGIVKAGPAIEVLGSAKAIGK  
 Gi11037724 :MNFAKILSFVFALVLAALSMTSAAPEPRWKIFKKIEKMGRNIRDGIVKAGPAIEVLGSAKAIGK  
 Gi1705741 :MNFSRILFLVFCFVALASVSAAPEPRWKIFKKIERVGVQNVNRDGIKAGPAIQVLGTAKALGK  
 Gi116090 :MNFSRIFFFVFALVLAALSMTSAAPEPRWKVFKKIEKMGRNIRDGIVKAGPAIQVLGEAKALG  
 Gi1705742 :MNFSRILFFVFTCFVALASVSGAPEPRWKFVKKIERVGVQNVNRDGLIKAGPAIQVLGAALKALGK

## 1.2 受体菌和试剂

大肠杆菌(*Escherichia coli*)DH5 $\alpha$ 由本实验室保存;金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)、谷氨酸棒杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)、苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)、普通变形菌(*Proteus vulgaris*)为新疆大学生命科学与技术学院微生物室所保存;化脓放线菌(*Actinomyces pyogenes*)为新疆医科大学第一附属医院保存;鸡沙门氏菌(*Salmonella enterica*)、牛布氏杆菌(*Brucella bovis*) (544A 国际标准株)为新疆兽医研究所提供。胃蛋白酶(Pepsin)为上海生工生物工程技术有限公司产品;80万单位的氨苄青霉素为石家庄制药集团产品;其余常用试剂为国产分析纯试剂。

## 1.3 培养基

LB 培养基:每升含有蛋白胨 10g,氯化钠 10g,酵母浸出粉 5g,pH7.2。

## 1.4 抗菌肽抑菌活性检测方法

首先从不同发酵时间的发酵抗菌肽中取出一定体积待测上清液。以金黄色葡萄球菌为实验菌种,在 LB 液体培养基中培养至  $OD_{650}$  为 0.6,参照琼脂孔穴扩散法<sup>[8]</sup>,取 400 $\mu$ L 菌悬液与 100 mL 固体培养基(含 1.3% 琼脂)在 45 $^{\circ}$ C 混匀,并铺在无菌培养皿中,待凝固后于 4 $^{\circ}$ C 保存备用,使用时,在平皿中打直径为 2mm 的若干小孔,并在孔中分别滴入 10 $\mu$ L 待测上清液,37 $^{\circ}$ C 条件下培养过夜。第 2 天测量抑菌圈大小。

## 1.5 抗菌肽的抑菌效价检测

分别取 40 $\mu$ L 金黄色葡萄球菌( $OD_{650} = 0.6$ )加入 260 $\mu$ L LB 培养基于 1.5mL EP 管中。向各管中依次加入 5 $\mu$ L、10 $\mu$ L、15 $\mu$ L、20 $\mu$ L、25 $\mu$ L、30 $\mu$ L、35 $\mu$ L 和 40 $\mu$ L 抗菌肽,37 $^{\circ}$ C 震荡,过夜培养。取过夜培养物 200 $\mu$ L 加入 2.8mL 液体 LB 中,测  $OD_{650}$ 。

## 1.6 抗菌肽活力单位的测定

将氨苄青霉素按不同的浓度稀释,做抑菌实验,测抑菌圈大小。氨苄青霉素的浓度梯度分别是  $800 \times 10^3$  U、 $400 \times 10^3$  U、 $80 \times 10^3$  U、 $40 \times 10^3$  U、 $16 \times 10^3$  U、 $8 \times 10^3$  U、 $4 \times 10^3$  U。向每孔分别加入不同浓度的氨苄青霉素 20 $\mu$ L,向另一孔加入 20 $\mu$ L 抗菌肽。37 $^{\circ}$ C 培养过夜。

## 1.7 抗菌肽热稳定性检测

将抗菌肽煮沸不同的时间,检测其对金黄色葡萄球菌抗性的变化,同时以无菌水和未煮沸的抗菌肽作对照。实验方法同 1.4 节所述,在孔中加入分别煮沸 15min、30min、1h、3h、5h、7h 和 8h 的 10 $\mu$ L 抗菌肽,进行抑菌实验。

## 1.8 检测人造胃液对抗菌肽的影响

将人造胃液(0.2g 胃蛋白酶粉末,溶于 100mL 水中,再加入 10mL 3% 的盐酸溶液)  $3\mu\text{L}$ 、 $6\mu\text{L}$  和  $10\mu\text{L}$ , 分别加入  $10\mu\text{L}$  的抗菌肽。在  $37^\circ\text{C}$  恒温培养箱放置 24h 后,进行琼脂孔穴扩散实验,方法同 1.4 节所述。

## 1.9 抗菌肽对抗氨苄青霉素的环境微生物的抗性检测

将筛选到的抗氨苄青霉素环境微生物,在 LB 液体培养基中培养至  $OD_{650}$  值为 0.6,通过琼脂孔穴扩散实验,在平皿中打直径为 4mm 的 3 个小孔,并在孔中分别滴入  $30\mu\text{L}$  的抗菌肽、氨苄青霉素和无菌水,  $37^\circ\text{C}$  培养过夜。

## 1.10 抗菌肽对抗氨苄青霉素的金黄色葡萄球菌和鸡沙门氏菌的抗性检测

用氨苄青霉素对金黄色葡萄球菌和鸡沙门氏菌进行“选择性压力”筛选,选择能抗氨苄青霉素的金黄色葡萄球菌和鸡沙门氏菌,做抑菌实验。实验组为抗菌肽,对照组为氨苄青霉素。

## 1.11 检测抗菌肽在不同 pH 值缓冲液中抑菌活性的变化

按照参考文献 9 配制 pH2 ~ 12 缓冲液。取  $10\mu\text{L}$  抗菌肽,分别加入  $10\mu\text{L}$  不同 pH 值缓冲液,以不加抗菌肽的不同 pH 值缓冲液为对照,做抑菌实验,方法同 1.4 节。

## 1.12 检测抗菌肽在不同高盐(NaCl)浓度下活性的变化

分别取  $10\mu\text{L}$  抗菌肽,加到  $10\mu\text{L}$  的 0.5、1.0、1.5、2.0 和 2.5 mol/L 的 NaCl 浓度梯度中。以不加 NaCl 的抗菌肽为对照,进行琼脂孔穴扩散实验,方法同 1.4 节。

## 1.13 检测抗菌肽的广谱抗菌活性

同样用琼脂孔穴扩散实验检测抗菌肽对不同细菌的抑菌活性。实验指示菌有 *E. coli* DH5 $\alpha$ 、*S. aureus*、*B. megaterium*、*C. glutamicum*、*B. thuringiensis*、*P. vulgaris*、*A. pyogenes*、*S. enterica* 和 *B. bovis*。

# 2 结果

## 2.1 抗菌肽的抑菌效价检测

在  $260\mu\text{L}$  LB 培养基中加入  $40\mu\text{L}$  *S. aureus* ( $OD_{650} = 0.6$ ),再分别向各管中加入不同量抗菌肽,  $37^\circ\text{C}$  震荡培养过夜,结果显示:在加入  $9.9\mu\text{g}$ 、 $11.55\mu\text{g}$ 、 $13.2\mu\text{g}$  抗菌肽后,从开始的  $OD_{650} = 0.058$  到  $OD_{650} \leq 0.01$  保持不变,表明随着抗菌肽量的增多, $OD_{650}$  值越来越小,培养基中所含 *S. aureus* 就越来越少,直到加入  $9.9\mu\text{g}$  抗菌肽就可以完全杀灭  $260\mu\text{L}$  LB 培养基中含有  $40\mu\text{L}$  的 *S. aureus* ( $OD_{650} = 0.6$ )。结果表明抗菌活性与抗菌肽的量有关(图 1)。

## 2.2 抗菌肽活力单位的测定

将氨苄青霉素按不同的浓度稀释,进行抑菌实验,抑菌圈大小(表 1)表明  $300 \times 10^3 \text{U}$  的氨苄青霉素抑菌圈直径为 23mm,随着氨苄青霉素单位的降低,抑菌圈直径逐渐减小。

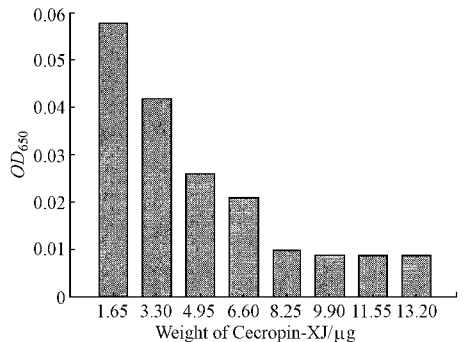


图 1 抗菌肽的抑菌效价检测

Fig.1 The testing antibacterial efficiency of Cecropin-XJ

当氨苄青霉素 ( $20\mu\text{L}$ ) 为  $8 \times 10^3 \text{U}$  时的抑菌圈直径为  $13\text{mm}$ , 与  $20\mu\text{L}$  抗菌肽的抑菌圈相等, 得出抗菌肽的杀菌活力为:  $1\text{mg}$  抗菌肽与  $1200\text{U}$  的氨苄青霉素杀菌活力相当。

表 1 抗菌肽活力单位的测定

Table 1 The measure of activity unit of Cecropin-XJ

Sample Cecropin-XJ	Amp( $\times 10^3 \text{U}$ )							
	800	400	80	40	16	8	4	
Inhibitor Zone( d )mm	13	23	20	18	16	15	13	10

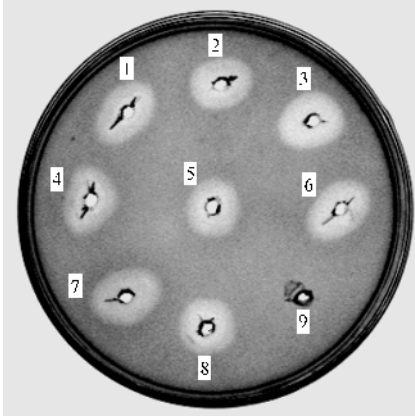


图 2 抗菌肽热稳定性检测

Fig.2 The heat-stable determination of Cecropin-XJ by boiling

1. 15min ; 2. 30min 3. 1h 4. 3h 5. 5h ;  
6. 7h 7. 8h 8. unheated 9. H<sub>2</sub>O.

### 2.3 抗菌肽热稳定性检测

将抗菌肽煮沸 8h 后, 进行抗菌实验。结果显示煮沸 8h 的抑菌圈与未煮沸的抗菌肽的抑菌圈大小不变, 表明抗菌肽具有很强的热稳定性(图 2)。

### 2.4 检测人造胃液对抗菌肽的影响

将人造胃液与抗菌肽混合, 在  $37^\circ\text{C}$  恒温培养箱放置 24h 后, 进行琼脂孔穴扩散实验。结果显示其产生的抑菌圈与没有加胃液的抗菌肽产生的抑菌圈大小一致, 而只加入人造胃液的琼脂孔没有抑菌圈, 表明人造胃液的加入不影响抗菌肽的活性。

### 2.5 抗菌肽对抗氨苄青霉素的环境微生物的抗性检测

在含有抗氨苄青霉素环境微生物的固体培养基上, 加入抗菌肽的孔周围有明显的抑菌圈, 而在加有水和氨苄青霉素的孔周围无抑菌圈。结果表明新疆家蚕抗菌肽可以杀灭抗氨苄青霉素的环境微生物。

### 2.6 抗菌肽对抗氨苄青霉素的金黄色葡萄球菌和鸡沙门氏菌的抗性检测

在含有抗氨苄青霉素的 *S. aureus* 和 *S. enterica* 的固体培养基上, 加有氨苄青霉素的孔周围无抑菌圈, 而加入抗菌肽的孔周围有明显的抑菌圈。结果表明新疆家蚕抗菌肽可以杀灭抗氨苄青霉素的 *S. aureus* 和 *S. enterica*。

### 2.7 检测抗菌肽在不同 pH 值缓冲液中的抑菌活性变化

在等体积缓冲液与抗菌肽的混合液所产生的抑菌圈中, 从  $\text{pH}2 \sim 7$ , 抑菌圈大小不变; 从  $\text{pH}8 \sim 12$  随着 pH 值的升高, 抗菌肽的作用受到一定的抑制。说明酸基本不影响抗菌肽的抑菌活性, 而碱对抗菌肽的抑菌活性有一定程度的抑制作用(图 3)。

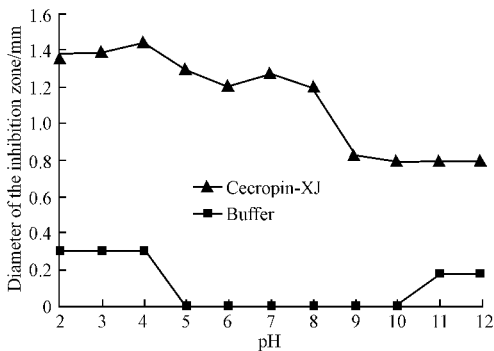


图 3 不同 pH 缓冲液对抗菌肽抑菌活性的影响

Fig.3 The antibacterial activity of Cecropin-XJ affected by different pH

## 2.8 检测抗菌肽在不同盐(NaCl)浓度下活性的变化

抗菌肽在 0.5、1.0、1.5、2.0 和 2.5 mol/L 的 NaCl 溶液中进行抑菌试验,抑菌圈的直径不低于 1.8mm。结果表明高浓度盐不影响抗菌肽抗菌活性。

## 2.9 检测抗菌肽的广谱抗菌活性

结果表明抗菌肽对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、巨大芽孢杆菌、谷氨酸棒杆菌、苏云金芽孢杆菌、普通变形菌、化脓放线菌、鸡沙门氏菌、牛布氏杆菌等有不同程度的杀灭抑制作用(表 2),其中抗菌肽对鸡沙门氏菌的抑菌作用最强,对金黄色葡萄球菌、牛布氏杆菌、巨大芽孢杆菌、谷氨酸棒杆菌、苏云金芽孢杆菌、普通变形菌的抗菌作用次之,对大肠杆菌和化脓放线菌的抑菌作用稍弱一些。

## 3 讨论

自 Boman 等<sup>[10]</sup>从天蚕(*Hyalophra cecropia*)蛹中分离获得天蚕素(Cecropin)以来,目前已发现的昆虫抗菌肽有 150 多种<sup>[11,12]</sup>,天蚕素是最早发现的抗菌肽,也是目前已知天然抗菌肽中活性最强的一种,这类抗菌肽结构相似,都由 31~39 个氨基酸残基组成,分子量在 4kD 左右,分子内有两性分子的  $\alpha$ -螺旋结构,半胱氨酸含量少,不具二硫键。在肽的许多特定位置有较保守的残基。N-端和 C-端都有  $\alpha$ -螺旋结构,N-端通常呈碱性,带正电荷;C-端酰胺化,中性或微酸性,不带电或带少量负电荷。天蚕素抗菌机制独特,由于天蚕素分子带正电荷,在静电作用下与带负电的细菌细胞表面结合,天蚕素疏水的 C 端插入细菌细胞膜中的疏水区域,随着天蚕素分子在细菌细胞膜上的集聚,使得膜外正电荷增多,两侧膜电位升高,最终改变了细胞膜的构象,多个天蚕素分子聚合在细菌细胞膜上形成离子通道,造成细菌细胞内物质泄漏导致细菌死亡<sup>[13]</sup>。新疆家蚕抗菌肽净正电荷主要分布在成熟蛋白 N-端,疏水基团主要分布在其 C-端,这样结构决定的抗菌肽的可能作用机制与 Fink J 的“细胞膜电势依赖通道的形成模式”相符合。

新疆家蚕抗菌肽属于杀菌力最强的天蚕素-B 类(Cecropin B),其所编码的抗菌肽蛋白前体有 63 个氨基酸,其中成熟蛋白为 37 个氨基酸,前导肽为 26 个氨基酸,不含半胱氨酸、不具二硫键,第 8 位的苯丙氨酸,又有别于其它的抗菌肽,产生有别于其它抗菌肽的特性,甚至有更高的活性。抗菌肽是一小分子肽,具有热稳定性,可以耐受 100℃ 的高温达 4h<sup>[14]</sup>,而新疆家蚕抗菌肽在加热煮沸 8h 后,抗菌活性仍未变化,表明新疆家蚕抗菌肽具有极强的热稳定性。

当前对于由金黄色葡萄球菌感染的细菌病的治疗,主要依赖于抗生素的使用<sup>[15]</sup>,但随着“传统抗生素”的长期使用导致抗药菌株的产生。近期的研究发现,抗菌肽具有“传统

表 2 抗菌肽 Cecropin-XJ 抗菌谱

Table 2 The antibacterial spectrum of Cecropin-XJ

Indicator strains	Antibacterial activity
<i>Escherichia coli</i>	++
<i>Staphylococcus aureus</i>	++++
<i>Bacillus megaterium</i>	+++
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	+++
<i>Bacillus thuringiensis</i>	+++
<i>Proteus vulgaris</i>	+++
<i>Actinomyces pyogenes</i>	++
<i>Salmonella enterica</i>	+++++
<i>Brucella bovis</i>	+++++

The antibacterial activity is expressed by the diameter of inhibition zone. ++ .5~10mm; +++ .10~15mm; ++++ .15~20mm; ++++ .20~25mm.

抗生素"无法比拟的优越性:不会诱导抗药菌株的产生。本实验中新疆家蚕抗菌肽可以杀灭抗氨基青霉素的环境微生物和氨基抗性的金黄色葡萄球菌,并且 1mg 抗菌肽与 1200U 的氨基青霉素杀菌活力相当。这一发现为研制新的抗生素提供了思路。

布氏杆菌是革兰氏阴性菌,是野生和家养哺乳动物细胞内的病原体,能够引起严重的动物和人类感染<sup>[16]</sup>。沙门氏菌感染也是一种人畜共患病,其特征是生殖器官和胎膜发炎引起流产、不育和各组织的局部病灶<sup>[17]</sup>。沙门氏菌传染病经常侵袭畜禽,由于没有有效的抗菌素,使发病的畜禽死亡率增大,经济损失巨大。我国各地主要使用抗生素药物防治沙门氏等细菌病,由于人们长期反复使用抗菌药物,加剧了细菌耐药的严重程度。我们在新疆家蚕抗菌肽的初步抑菌实验中发现,抗菌肽能够杀灭布氏杆菌和沙门氏菌,并且能杀灭抗氨基青霉素的鸡沙门氏菌,抗菌肽的应用,将直接有效的控制细菌性感染,减少发病死亡率,在促进畜牧业健康发展,保证人类健康中发挥重要的作用。

在抗菌肽的广谱抗菌中,发现新疆家蚕抗菌肽对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有不同程度的抗性,其中对鸡沙门氏菌、牛布氏杆菌、金黄色葡萄球菌的抗菌作用较强,对大肠杆菌和化脓杆菌的抗菌作用稍弱一些。同时抗菌肽对酸、碱和 NaCl 有一定程度的耐受性,为抗菌肽分子的改造和设计提供了理论依据,为进一步研究抗菌肽结构与活性的关系和作用机制奠定了基础。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Imler J, Hoffmann J A. Toll receptors in innate immunity. *Trends Cell Biol*, 2001, **11**: 304 ~ 311.
- [ 2 ] Dimopoulos G, Müller H M. Innate immune defense against malaria infection in the mosquito. *Curr Opin Immunol*, 2001, **13**: 79 ~ 88.
- [ 3 ] Hoffmann J A, Reichhart J M. *Drosophila* innate immunity: an evolutionary perspective. *Nat Immunol*, 2002, **3**: 121 ~ 126.
- [ 4 ] Boman H G, Hultmark D. Cell-free immunity in insects. *Annu Rev Microbiol*, 1987, **41**: 103 ~ 126.
- [ 5 ] Marchini D, Giordano P C, Amos R, et al. Purification and primary structure of ceratotoxin A and B, two antibacterial peptides from the medfly *ceratitis capitata*. *Insect Biochem Mol Biol*, 1993, **23**(5): 591 ~ 598.
- [ 6 ] 吴代飞, 曾宪松, 张银东, 等. 抗菌肽 B 基因的点突变及在昆虫细胞中的表达. *热带作物学报*, 1999, **20**(3): 54 ~ 58.
- [ 7 ] 卢晓风, 杨星勇, 程惊秋, 等. 昆虫抗菌肽及其研究进展. *药科学报*, 1999, **34**(2): 156 ~ 160.
- [ 8 ] Hultmark D, Steiner H, Rasmuson T, et al. Purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*. *European Journal of Biochemistry*, 1980, **106**: 7 ~ 16.
- [ 9 ] 武汉大学主编. 分析化学. 北京: 高等教育出版社, 1995. 73 ~ 81.
- [ 10 ] Boman H G, Nilsson I, Rasmuson B. Inducible antibacterial defense system in *Drosophila*. *Nature*, 1972, **237**: 232 ~ 235.
- [ 11 ] Gellissou G, Melber K, Sanowicz Z A, et al. Heterologous gene expression in yeast. *Gen Mole Microbiol*, 1991, **62**: 79 ~ 93.
- [ 12 ] Lamberty M, Ades S, Uttenweiler-Joseph S, et al. Isolation from the lepidopteran *Heliothis virescens* of a novel insect defensin with potent antifungal activity. *J Biol Chem*, 1999, **274**: 9320 ~ 9326.
- [ 13 ] Christensen B, Fink J, Merrifield R B, et al. Channel-forming properties of cecropins and related model compounds incorporated into planar lipid membranes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, **85**: 5072 ~ 5076.
- [ 14 ] 洪华珠, Ann Marri Fallon. 粉纹夜蛾离体细胞抗菌肽的诱导和抗菌活性测定. *华中师范大学学报(自然科学版)*, 1999, **33**(4): 564 ~ 569.
- [ 15 ] Nair S P, Williams R J, Henderson B. Advances in our understanding of the bone and joint pathology caused by *Staphylococcus aureus* infection. *Rheumatology*, 2000, **39**: 821 ~ 834.

- [ 16 ] Maria-Teresa A M , Jan M , Christoph W . The *Brucella suis* homologue of the *Agrobacterium tumefaciens* chromosomal virulence operon *chvE* is essential for sugar utilization but not for survival in Macrophages Maria . *Journal of Bacteriology* , 2001 , 183 ( 18 ) 5343 ~ 5351 .
- [ 17 ] 林振胜 . 布氏杆菌病对人畜的危害及其预防措施 . 福建畜牧兽医 , 2002 24 ( 7 ) 59 .

## Studies on the Properties of Cecropin-XJ Expressed in Yeast from Xinjiang Silkworm

Liu Zhongyuan Zhang Fuchun\* Cai Lun Zhao Gan Wang Bin

( Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering , College of Life Science and Technology , Xinjiang University , Urumqi 830046 , China )

**Abstract** : The purpose of this study is to investigate the properties of recombinant Cecropin-XJ isolated from Xinjing silkworm and expressed in *Pichia* yeast . According to Agarose Diffusion Assay , this recombinant Cecropin-XJ has exhibited an extreme heat-stable characteristic and the ability to kill ampicillin-resistant *S. aureus* and *S. enterica* . Moreover , we have observed that the Cecropin-XJ well tolerant to extreme acidic , basic , and high salt environments as well as resistant to 24 hours digestion by artificial gastric juice . The inhibition capability to *S. aureus* with 1mg Cecropin-XJ is equal to 1200U ampicillin . With a broad spectrum of antibacterial activities , the Cecropin-XJ is able to inhibit the Gram-positive bacteria and Gram-negative bacteria . These findings could lead it to a broad applications for agriculture , medical , domestic animal and food industry . The further investigation of the antibacterial mechanism of cecropin-XJ is needed .

**Key words** : Cecropin-XJ , Xinjiang silkworm , Anti-bacterial activity , Heat-Stable , Drug-resistant bacteria , Artificial gastric juice

Foundation item : Chinese National Programs for Science and Technology Development( 2001BA901A32 )

\* Corresponding author . Tel 86-991-8583259 ; Fax 86-991-8583259 ; E-mail :zfc@xju.edu.cn

Received date : 12-11-2002

### 欢迎订阅《中国药理学通报》

《中国药理学通报》是国家级核心期刊和权威的文献源期刊 , 主要刊登药理学研究论文 , 多次荣获国家及华东地区优秀科技期刊奖 , 2003 年更是荣获国家期刊奖百种重点期刊奖 , 被国家权威机构认定为医学类、药学类核心期刊 , 并被几乎所有国内相关检索性期刊及数十种国外著名检索期刊收录、利用。连续 8 年名列美国《CA 千种表》, 1997 年摘引量曾名列美国《CA 千种表》收录的中国医药期刊第 1 名。

《中国药理学通报》为月刊 , 大 16 开 120 页 , 印刷质量高 , 每期定价 12.00 元 , 全年 144.00 元。邮发代号 26-52 , 请及时向当地邮局订阅 , 漏订读者请直接汇款至我刊编辑部 , 免收邮资费。地址 : 安徽省合肥市安徽医科大学校内《中国药理学通报》编辑部 , 邮编 : 230032 , 联系人 : 吴慧、武明静。电话 : 0551-5161221 , 电子信箱 : cpb@ahmu.edu.cn。