

抗菌肽 Rs-AFP₂ 的原核表达及抑菌活性

路妍^{1,2}, 刘宝业², 井金学¹, 张增艳²

(¹西北农林科技大学植物保护学院, 陕西杨凌 712100; ²中国农业科学院作物科学研究所/农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京 100081)

摘要:为了明确人工合成的萝卜抗菌肽 Rs-AFP₂ 基因编码产物是否对一些重要农作物病原真菌有抑制作用, 本文将该基因编码序列亚克隆到原核表达载体 pGEX-4T-1 上, 构建成 GST-Rs-AFP₂ 融合蛋白表达载体。经异丙基-β-D-硫代半乳糖苷 (IPTG) 诱导, 获得了以包涵体形式表达的 GST-Rs-AFP₂ 重组蛋白。经过裂解、洗涤、溶解、复性、离心等处理, 获得了纯化的 GST-Rs-AFP₂ 融合蛋白。对重要作物病原真菌进行体外抑菌分析的结果表明, Rs-AFP₂ 可以显著抑制水稻纹枯病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌、棉花黄萎病菌、小麦赤霉病菌的菌丝生长, 说明 Rs-AFP₂ 可作为上述植物病害抗性基因育种的潜在基因。

关键词: 抗菌蛋白 Rs-AFP₂; 复性; 抑制真菌; 植物病原真菌

Expression of Rs-AFP₂ in *Escherichia coli* and Its Antifungal Assay

LU Yan^{1,2}, LIU Bao-ye², JING Jin-xue¹, ZHANG Zeng-yan²

(¹ College of Plant Protection, Northwest A & F University, Yangling 712100; ² National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement/Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: Rs-AFP₂ is an antifungal peptide from radish (*Raphanus sativus*). In this study, the full cDNA sequence of Rs-AFP₂ gene was synthesized, and was sub-cloned in-frame to the 3'-terminus of the ORF of Glutathione S-transferase (GST) in the prokaryotic expression vector pGEX-4T-1. This allowed the recombinant protein GST-Rs-AFP₂ to be highly expressed in cells of *Escherichia coli*. The recombinant protein GST-Rs-AFP₂ could be expressed in the form of inclusion bodies after induction by isopropyl-β-D-thiogalactoside. Then, the GST-Rs-AFP₂ protein was solubilized, denatured, refolded, and purified. The results of antifungal assay *in vitro* showed that the Rs-AFP₂ protein exerted obvious inhibition against the growth of phytopathogenic fungi, such as *Rhizoctonia solani*, *R. cerealis*, *Bipolaris sorokiniana*, *Verticillium dahliae*, and *Fusarium graminearum*. Therefore, Rs-AFP₂ gene may be useful for improving the crop resistance against the above pathogenic fungi.

Key words: Antifungal protein Rs-AFP₂; Refolding; Antifungal activity; Phytopathogenic fungus

真菌病害是植物病害中最严重的一类, 几乎所有的高等植物都受到不同程度的危害。由于真菌的高变异性, 使得传统育种方法的应用受到了很大的限制。因此, 寻找具有广谱抗真菌活性的蛋白质已成为利用基因工程进行农作物抗病性改良研究的一个热点。

1992年 Terras 等^[1]从萝卜种子中分离出一类

富含半胱氨酸的小分子量的抗真菌蛋白质 (*Raphanus sativus* antifungal proteins, Rs-AFPs), 在开花后 45d 开始合成, 并分泌至胞外, 积累在细胞壁中。当种子萌发、种皮破裂时, 蛋白质释放出来, 有效地抵制了土壤病原真菌的侵袭。Rs-AFP₂ 前体由 80 个氨基酸组成, 包括 29 个氨基酸的信号肽和 51 个氨基酸的成熟肽, 通过引起菌丝顶端膨大和过度分枝来

收稿日期: 2009-03-07

修回日期: 2009-09-11

基金项目: 国家转基因生物新品种培育科技重大专项 (2008ZX08002-001)

作者简介: 路妍, 在读硕士

通讯作者: 井金学, E-mail: jingjinxue@163.com; 张增艳, E-mail: zhangzy@mail.caas.net.cn

抑制菌丝生长,对多种植物病原真菌和酵母菌有抑制作用,而且对植物和人体培养细胞没有影响^[2]。研究发现,Rs-AFP₂可以与真菌和酵母菌细胞膜上鞘脂类的葡糖苷神经酰胺等相互作用,影响细胞膜的正常结构,改变细胞膜的透性,引起 Ca²⁺和 H⁺内流、K⁺外流,并且可以诱导内源还原氧(ROS)增加,影响细胞正常的生理过程,最终导致细胞死亡^[2-5]。因此,利用基因工程手段将抗菌肽基因导入植物体内进行表达,杀死侵染植物的病原菌,可以有效防治由病原菌引起的植物病害。Terras 等^[6]将 Rs-AFP₂导入烟草,获得了对 *Alternaria brassicicola* 抗性显著增强的高水平表达的烟草。

本研究构建了人工合成 Rs-AFP₂基因的原核表达载体,使 Rs-AFP₂在大肠杆菌细胞中表达,通过一系列处理获得有活性的纯化蛋白,对 5 种重要的农作物病原真菌进行体外抑菌分析,为评价 Rs-AFP₂基因在农作物抗性改良中的应用潜力提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

根据 Terras 等^[6]和 NCBI 中 Rs-AFP₂基因序列(DQ979838)和小麦偏爱的密码子,人工合成了 Rs-AFP₂基因的编码序列。小麦纹枯病菌(*Rhizoctonia cerealis*)、小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)引自江苏省农业科学院,水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*)、小麦根腐病菌(*Bipolaris sorokiniana*)、棉花黄萎病菌(*Verticillium dahliae*)购自中国农科院植物保护研究所。

1.2 方 法

1.2.1 表达载体的构建 利用引物(序列 RAFF-BamF: 5'-CAGGATCCATGGCTAAGTTTGCTTCTATC-3'; RAFF-SalR: 5'-GTGTCGACTTAACAAGGAAATAACAGA-3'),通过 PCR 扩增,在 Rs-AFP₂基因的 ORF 序列 5'端加上 BamHI、3'端加上 SalI 酶切位点,连接到 pMD18-T 载体上构建中间载体 pTAFP2。用 BamHI 和 SalI 双酶切 pTAFP2 和原核表达载体 pGEX-4T-1,然后用 T₄连接酶将 Rs-AFP₂基因的 ORF 亚克隆到双酶切后的 pGEX-4T-1 载体的 GST 3'端,构建成重组蛋白 GST-Rs-AFP₂的原核表达载体,转化到大肠杆菌 TOP10 感受态细胞中,经菌落 PCR 检测、测序分析,把测序正确的重组质粒命名为 pGST-Rs-AFP₂,再将 pGST-Rs-AFP₂质粒转化到大肠杆菌 BL21(DE3)感受态细胞中(图 1)。

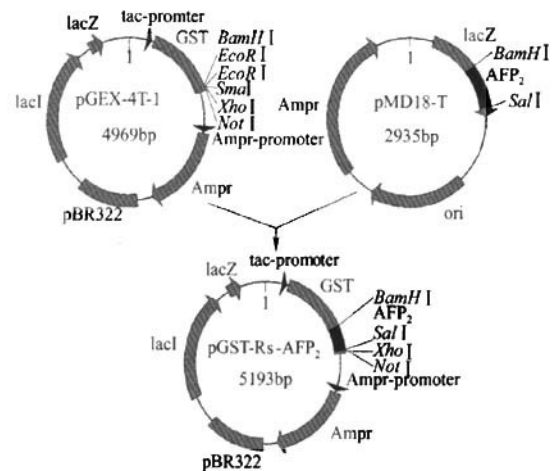


图 1 融合蛋白表达载体 pGST-Rs-AFP₂ 构建过程示意图

Fig. 1 Construction of the fusion protein expression vector pGST-Rs-AFP₂

1.2.2 pGST-Rs-AFP₂在大肠杆菌中的表达 将含 pGST-Rs-AFP₂的 BL21 单菌落接种于含 50 μg/ml 氨苄青霉素(Amp) LB 液体培养基,37℃ 培养 12h。将培养菌液按 1:50 的比例转接至(5ml) LB 液体培养基(含 50 μg/ml Amp)中,37℃ 摇床中,225 转/min(rpm)振荡培养 1~2h,OD₆₀₀达到 0.6~0.8 时,加入异丙基-β-D-硫代半乳糖苷(isopropyl-β-D-thiogalactoside, IPTG)^[5]至终浓度为 1mmol/L,继续培养 4h。将上述菌液放入离心管中,8000rpm 离心 10min,弃上清液,用培养菌液体积的 1/10 倍 PBS 缓冲液重新悬浮细胞沉淀,5ml 细胞悬浮液加入溶菌酶(50mg/ml)50 μl 室温消化 5min,期间不断搅拌,液氮中反复冻融 10 次后,超声波(30s-ON/10s-OFF, 20 kHz)裂解 30min,12000rpm 离心 15min,各取 10 μl 上清液和重新悬浮的沉淀加入等体积的 2 × SDS-PAGE 上样缓冲液,沸水浴 10min,取 10 μl 进行 SDS-PAGE(4%浓缩胶,12%分离胶),分析蛋白表达的结果。

1.2.3 目的蛋白的大量诱导表达 将含有 pGST-Rs-AFP₂的大肠杆菌 BL21 接种于 5ml 含 Amp(50 μg/ml)的 LB 液体培养基中,37℃、225rpm 培养 12h。将菌液按 1:100 接种于 500ml 上述 LB 培养液中,摇动培养 2~3h,直至 OD₆₀₀达到 0.6~0.8 之间,加入终浓度 1mmol/L IPTG,继续摇动培养 4h,离心收集细菌。按 1L 发酵菌 100ml PBS 重新悬浮,经溶菌酶消化,液氮反复冻融,超声破碎,12000rpm 离心 15min,分别收集上清和沉淀,各取 10 μl 用于 SDS-PAGE。

1.2.4 包涵体的复性与纯化 参考文献^[7-12]描述的相关程序,主要对文献^[12]中相关方法进行优化,发展了如下方法:将离心收集的沉淀(包涵体)用相当于沉淀3倍体积的包涵体洗涤缓冲液(10mmol/L Tris-HCl, pH7.8, 300mmol/L NaCl, 1mmol/L EDTA, 1% TritonX-100和1mol/L urea)洗涤1次,室温放置5min,离心,去上清,收集沉淀。所得沉淀用无菌水洗涤5次,每次洗涤后均在4℃, 12000rpm离心10min。所得包涵体溶解于相当于沉淀10倍体积的溶解缓冲液(50mmol/L Tris-HCl, pH7.8, 5mmol/L MgCl₂, 2.5mmol/L β-mercaptoethanol, 0.1% (w/v) Tween 20, 8mol/L Urea), 室温放置1h, 期间不断搅拌。4℃, 10000rpm离心20min, 收集上清液。

包涵体溶解液逐滴加入复性 buffer (0.4mol/L L-Arginine, 2mmol/L DTT, 0.5mol/L NaCl, 50mmol/L Tris-HCl, pH8.0), 并不断搅拌, 直至刚刚要出现白色沉淀, 4℃放置24h。

蛋白浓度测定:用BSA(牛血清白蛋白)作标准曲线,采用考马斯蓝染料结合法^[10],测定蛋白质浓度。

1.2.5 体外抗真菌活性测定 采用菌丝生长抑制法^[13],以抑菌圈半径的大小表示样品的抗真菌活性。在装有PDA培养基的培养皿(直径=9cm)中心及距中心等距处打孔(直径=0.5cm),将孔径相同的生长旺盛的病原真菌菌块接种于中心孔内,25℃倒置暗培养2d。待菌落直径至2~3cm时,将32μg复性的GST-Rs-AFP₂蛋白(60μl, 535μg/ml)、复性buffer分别加于另外两孔中,4℃暗培养过夜,待蛋白完全渗入周围培养基后,继续25℃倒置培养24~48h,测量抑菌圈的半径。抑菌效率的计算如下:抑菌效率(%)=(未经处理的菌落圆心至边缘之距离-目的蛋白处理后菌落圆心至边缘之距离)/未经处理的菌落圆心至边缘之距离×100。为排除GST-Rs-AFP₂中GST蛋白对菌丝生长的可能影响,将GST作为对照。

挑取经GST-Rs-AFP₂作用的小麦纹枯病菌的菌落边缘菌丝,涂在玻璃片上,采用苯胺蓝染色^[11],光学显微镜(Olympus microscope 2H-1)放大200×观察菌丝形态。

在均匀涂布GST-Rs-AFP₂蛋白的PDA培养基与涂布复性buffer的PDA培养基上接种小麦纹枯病菌菌核,置于25℃暗培养箱倒置培养。观察小麦纹枯病菌菌核的萌发情况。

2 结果与分析

2.1 原核表达载体的构建

如图1所示,应用PCR扩增的方法在Rs-AFP₂基因的两端添加BamH I、Sal I酶切位点将其连接到同样酶切的pGEX-4T-1表达载体,通过菌落PCR检测、测序分析,鉴定出含目标基因序列且连接方向正确的载体的克隆,提取质粒,转化BL21(DE3)进行诱导表达。

2.2 Rs-AFP₂蛋白的诱导表达及包涵体复性

通过SDS-PAGE检测GST-Rs-AFP₂融合蛋白的表达。结果如图2所示,经IPTG诱导表达4h后,含有GST-Rs-AFP₂的E. coli BL21培养物沉淀中有1条约35kD的GST-Rs-AFP₂蛋白表达带,而含质粒pGEX-4T-1对照培养物上清液有1条约26kD的GST蛋白质条带,说明GST-Rs-AFP₂基因在大肠杆菌细胞中得到了表达。但诱导表达的GST-Rs-AFP₂绝大部分(约95%)分布在沉淀中,说明大肠杆菌细胞中表达的GST-Rs-AFP₂重组蛋白主要是以包涵体的形式存在,pGEX-4T-1的GST在大肠杆菌细胞培养物的上清液中表达。

将包涵体沉淀进行洗涤、溶解、复性、纯化。利用SDS-PAGE检测蛋白复性、纯化的效果。结果表明,复性后的GST-Rs-AFP₂为纯合蛋白(图2, Lane6)。

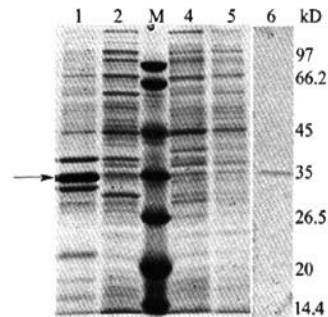


图2 SDS-PAGE检测融合蛋白GST-Rs-AFP₂的诱导表达结果

Fig.2 SDS-PAGE analysis of GST-Rs-AFP₂ protein

1: IPTG 诱导的 pGST-Rs-AFP₂ 培养物沉淀; 2: IPTG 诱导的 pGST-Rs-AFP₂ 培养物上清液; M: 蛋白质分子量标准; 4: IPTG 诱导的 pGEX-4T-1 培养物上清液; 5: IPTG 诱导的 pGEX-4T-1 培养物沉淀; 6: 复性 GST-Rs-AFP₂

1: Precipitation of pGST-Rs-AFP₂ after induction with 1mmol/L IPTG; 2: Supernatant of pGST-Rs-AFP₂ after induction with 1mmol/L IPTG; M: Protein molecular weight marker; 4: Supernatant of pGEX-4T-1 after induction with 1mmol/L IPTG; 5: Precipitation of pGEX-4T-1 after induction with 1mmol/L IPTG; 6: Refolded protein GST-Rs-AFP₂

2.3 Rs-AFP₂抗菌肽体外抑菌实验

对重要农作物病原真菌进行体外抑菌分析结果(图3)显示,复性液加样孔周围的真菌能正常生长,而加有 32 μg 复性 GST-Rs-AFP₂ 的加样孔周围的水稻纹枯病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌、棉花黄萎病菌、小麦赤霉病菌的菌丝生长受到了不同程度的明显抑制,形成了抑菌圈,证明复性后的 GST-Rs-AFP₂ 对所测的上述病原真菌有抑制作用。然而源于 pGEX-4T-1 培养液的 GST 对上述农作物病原真菌没有任何抑制作用,说明 Rs-AFP₂ 可以抑制水稻纹枯病菌、小麦纹枯病菌、小麦根腐病菌、花黄萎病菌、小麦赤霉病菌的菌丝生长。据抑菌圈半径大小计算出的 GST-Rs-AFP₂ 抑菌效率(表1)得知, Rs-AFP₂ 对水稻纹枯病菌抑制作用最强,对小麦纹枯病菌次之,对小麦根腐病菌和棉花黄萎病菌也有较强抑制作用,对小麦赤霉病菌抑制作用较弱。

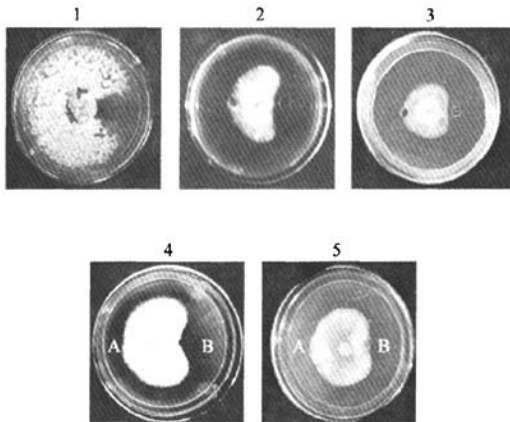


图3 Rs-AFP₂ 对不同病原菌的抑制作用

Fig. 3 Inhibitory activity of Rs-AFP₂ towards different pathogenic fungi

1:水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani*); 2:小麦纹枯病菌(*R. cerealis*); 3:小麦根腐病菌(*Bipolaris sorokiniana*); 4:棉花黄萎病菌(*Verticillium dahliae*); 5:小麦赤霉病菌(*Fusarium graminearum*)

A:复性 buffer (Refolding buffer); B:复性的 GST-Rs-AFP₂ 蛋白 (Refolded GST-Rs-AFP₂)

在加有 GST-Rs-AFP₂ 的 PDA 培养基上接种小麦纹枯病菌菌核, 48h 后仍没有生长, 而在加复性液的 PDA 培养基上, 小麦纹枯病菌菌核可以正常萌发, 说明 Rs-AFP₂ 还抑制小麦纹枯病菌菌核的萌发, 进一步证明 Rs-AFP₂ 对小麦纹枯病菌具有抑制作用。

显微镜观察表明, 与正常生长的小麦纹枯病菌菌丝相比(图4-A), Rs-AFP₂(图4-B)引起了小麦纹枯病菌菌丝的过度分支并且部分菌丝顶端变形扭曲, 从而使得菌丝生长受到抑制。

万方数据

表1 复性 GST-Rs-AFP₂ 对6种植物病原真菌的抑制作用
Table 1 Inhibition effect of refolded GST-Rs-AFP₂ on six pathogenic fungi

真菌种类 Fungus species	抑菌效率(%) Inhibition rate
水稻纹枯病菌 <i>Rhizoctonia solani</i>	76.00
小麦纹枯病菌 <i>Rhizoctonia cerealis</i>	52.94
小麦根腐病菌 <i>Bipolaris sorokiniana</i>	52.63
棉花黄萎病菌 <i>Verticillium dahliae</i>	50.00
小麦赤霉病菌 <i>Fusarium graminearum</i>	47.06

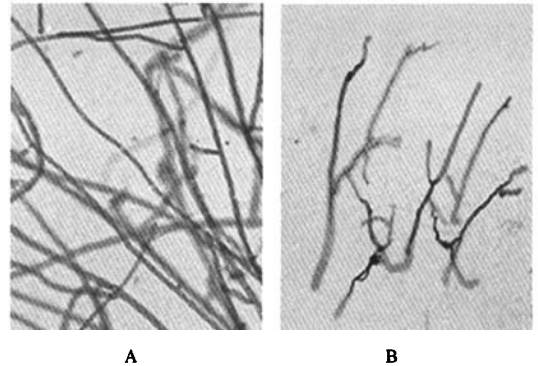


图4 光学显微镜观察复性蛋白 Rs-AFP₂ 对小麦纹枯病菌菌丝生长的抑制

Fig. 4 Microscopic observation on the control and treated fungal mycelia of *R. cerealis*

A:复性液处理的小麦纹枯病菌菌丝; B:复性蛋白 GST-Rs-AFP₂ 处理的小麦纹枯病菌菌丝

A: Mycelium of *R. cerealis* treated by refolding buffer, B: Deformed mycelium of *R. cerealis* treated by GST-Rs-AFP₂ refolded (Olympus microscope 2H-1 200 ×)

3 讨论

1992年 Terras 等^[1]发现, Rs-AFP₂ 在体外能抑制禾谷镰刀菌、粉色面包霉菌、麦类德氏霉菌、稻瘟病菌的菌丝生长。但是对 *R. cerealis* 是否有抑制作用目前未见报道。本研究通过 Rs-AFP₂ 的原核表达和体外抑菌实验, 证实 Rs-AFP₂ 蛋白可以通过破坏菌丝形态结构来抑制病原真菌 *R. cerealis* 的菌丝生长, 阻止病原菌的侵染和扩展。而且对水稻纹枯病菌、小麦根腐病菌、棉花黄萎病菌、小麦赤霉病菌等病原真菌均有不同程度的抑制作用。进一步证明 Rs-AFP₂ 具有广

谱抗真菌特性,因此,*Rs-AFP₂*可作为上述植物病害抗病性基因工程育种的重要候选基因。

众多研究表明,在高效率的原核表达系统中,许多重组蛋白的表达产物往往会形成包涵体^[6,11]。本研究发现,*GST-Rs-AFP₂*重组蛋白在高效率的原核表达系统中也以包涵体形式存在。由于以包涵体形式存在的蛋白没有活性,因此,本文进行了包涵体溶解液及复性等条件的优化,采用洗涤、溶解包涵体、稀释法复性与纯化等处理,成功地使包涵体中*GST-Rs-AFP₂*得到复性,而且提高了复性蛋白的纯度和浓度,从而可以用于后续的抑菌实验。对于其他基因的原核表达产物的活性产物的提纯具有重要参考价值。

参考文献

- [1] Terras F R G, Coderis I J, Leuven F V, et al. *In vitro* antifungal activity of a radish (*Raphanus sativus* L.) seed protein homologous to non-specific lipid transfer proteins [J]. *Plant Physiol*, 1992, 100(2):1055-1058
- [2] Thevissen K, Ghazi A, De Samblanx G W, et al. Fungal membrane responses induced by plant defensins and thionins [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271:15018-15025
- [3] Thevissen K, Terras F R G, Broekaert W F. Permeabilization of fungal membranes by plant defensins inhibits fungal growth [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65(12):5451-5458
- [4] Thevissen K, Warnecke D C, Francois I E, et al. Defensins from insects and plants interact with fungal glucosylceramids [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279:3900-3905
- [5] Aerts A M, Francois I E J A, Meert E M K, et al. The antifungal activity of RsAFP2, a plant defensin from *Raphanus sativus*, involves the induction of reactive oxygen species in *Candida albicans* [J]. *J Mol Microbiol Biotechnol*, 2007, 13:243-247
- [6] Terras F R G, Eggermont K, Kovaleva V, et al. Small cyteine-rich antifungal proteins from radish; their role in host defense [J]. *Plant Cell*, 1995, 7(5):573-588
- [7] Doxey A, Yaish M, Moffatt B, et al. Functional divergence in the *Arabidopsis* β -1,3-glucanase gene family inferred by phylogenetic reconstruction of expression states [J]. *Mol Biol Evol*, 2007, 24(4):1045-1055
- [8] Rudolph R, He L L. *In vitro* folding of inclusion body proteins [J]. *Faseb J*, 1996, 10(1):49-56
- [9] Bernard D, Quatannens B, Vandenbunder B, et al. Rel/NF- κ B transcription factors protect against tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis by up-regulating the TRAIL decoy receptor DeR1 [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(3):27322-27328
- [10] 刘金生, 王邵甫, 许晓群, 等. 重组人白细胞介素-15 包涵体离子交换柱复性与稀释复性的比较 [J]. *中国生化药物杂志*, 2005, 26(2):84-85
- [11] Kirubakaran S, Sakthivel N. Cloning and overexpression of antifungal barley chitinase gene in *Escherichia coli* [J]. *Protein Expression and Purification*, 2007, 52(1):159-166
- [12] Liu B, Lu Y, Zhang Z, et al. Identification and antifungal assay of a wheat β -1,3-glucanase [J]. *Biotech Lett*, 2009, 31(7):1005-1010
- [13] 胡萃, 安成才, 李毅, 等. 原核表达的天花粉蛋白和另外两种蛋白具有体外抗真菌活性 [J]. *微生物学报*, 1999, 39(3):234-240



《植物遗传资源学报》创刊 10 周年贺词

韩忠超

(农业部人力资源开发中心/中国农学会)

值此《植物遗传资源学报》创刊 10 周年之际,受中心主任、学会秘书长的委托,我谨代表农业部人力资源开发中心、中国农学会,中国期刊协会农业期刊分会,并以《中国农学通报》、《中国农村小康科技》编辑部的名义,向《植物遗传资源学报》广大编委、编辑部的全体同仁表示诚挚的慰问,对《植物遗传资源学报》10 年来所取得的成绩表示热烈的祝贺!

植物遗传资源是人类繁衍和发展最基本的物质基础,是地球最宝贵的财富,是人类生存和发展的战略性资源。生物技术的迅猛发展,为利用植物遗传资源有目的地改良植物的性状与品质,解决经济和社会发展中面临的人口与健康、资源、环境等方面的问题带来了新希望、新思路。作为我国最权威的植物遗传资源学术期刊,《植物遗传资源学报》在中国农科院作物科学研究所的正确领导下,在编委会的悉心指导下,在编辑部全体同志的精心努力和耕耘下,坚持正确的办刊方针,树立正确的办刊理念,十年如一日地服务植物遗传资源学科建设、丰富学术积淀,促进种业科技发展,成为广大

科技工作者喜爱和信赖的期刊。近年来,在编委会的正确领导下,编辑部围绕植物遗传资源发展的重点、难点、热点问题,在突出特色上下功夫,在服务读者上想办法,使《植物遗传资源学报》快速成长为国内极具影响力的中文核心、科技核心期刊。尤为可喜的是,在数字媒体一支独秀、纸质期刊快速下滑的今天,《植物遗传资源学报》的影响力不仅没有下滑,而且还在逐年提升。

作为主办单位之一,我们愿意尽自己最大的努力,和中国农科院作物科学研究所一道,一如既往地关心、支持《植物遗传资源学报》。希望该刊以 10 周年大会为契机,抓住国家推进新闻出版体制改革的机遇,着力提升期刊和编辑部的数字化水平,强化学术意识、创新意识、营销意识、品牌意识、信息意识,把《植物遗传资源学报》办成国内外植物遗传资源的学术高地,办成对我国农业科技产生重大影响的精品期刊,“百尺竿头,更进一步”,开创《植物遗传资源学报》事业的新天地!

抗菌肽Rs-AFP₂的原核表达及抑菌活性

作者: 路妍, 刘宝业, 井金学, 张增艳
作者单位: 路妍(西北农林科技大学植物保护学院, 陕西, 杨凌, 712100; 中国农业科学院作物科学研究所/农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京, 100081), 刘宝业, 张增艳(中国农业科学院作物科学研究所/农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京, 100081), 井金学(西北农林科技大学植物保护学院, 陕西, 杨凌, 712100)
刊名: 植物遗传资源学报 ISTIC PKU
英文刊名: JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES
年, 卷(期): 2010, 11(1)
被引用次数: 1次

参考文献(13条)

- [Thevissen K; Ghazi A; De Samblanx G W Fungal membrane responses induced by plant defensins and thionins](#) 1996
- [Thevissen K; Wamecke D C; Franscois I E; et al Defensins from insects and plants interact with fangal glucosylceramids](#) 2004
- [Thevissen K; Tetras F R G; Broekaert W F Permeabilization of fungal membranes by plant defensins inhibits fungal growth](#)[外文期刊] 1999(12)
- 胡苹; 安成才; 李毅 原核表达的天花粉蛋白和另外两种蛋白具有体外抗真菌活性 1999(03)
- Liu B; Lu Y; Zhang Z Identification and antifungal assay of a wheat β -1,3-glucanase 2009(07)
- Kirubakaran S; Sakthivel N Cloning and overexpression of antifungal barley chitinase gene in *Escherichia coli*[外文期刊] 2007(01)
- 刘金生; 王郡甫; 许晓群 重组人白介素-15包涵体离子交换柱复性与稀释复性的比较[期刊论文]-中国生化药物杂志 2005(02)
- Bernard D; Quatannens B; Vandebunder B Rel/NFkappaB transcription factors protect against tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis by up-regulating the TRAIL decoy receptor DeR1 2001(03)
- Rudolph R; He L L In vitro folding of inclusion body proteins 1996(01)
- Doxey A; Yaish M; Moffatt B Functional divergence in the Arabidopsis β -1,3-glucanase gene family inferred by phylogenetic reconstruction of expression states[外文期刊] 2007(04)
- Tetras F R G; Eggermont K; Kovaleva V Small cyteine-rich antifungal proteins from radish: their role in host defense 1995(05)
- Aerts A M; Francois I E J A; Meert E M K The antifungal activity of RsAFP2, a plant defensin from *Raphanus sativus*, involves the induction of reactive oxygen species in *Candida albicans* 2007
- Tetras F R G; Goderis I J; Leuven F V In vitro antifungal activity of a radish (*Ruphanus sativus* L.) seed protein homologous to non-specific lipid transfer proteins 1992(02)

引证文献(1条)

- 舒梅, 许杨, 徐熙, 涂追 两种水生动物抗菌肽的原核表达及活性分析[期刊论文]-中国生物工程杂志 2011(2)