

# 抗菌肽 Buforin II 衍生物抑制大肠杆菌 大分子合成的研究

郝刚<sup>1\*</sup> 施用晖<sup>2</sup> 马丹雅<sup>3</sup> 乐国伟<sup>2</sup>

(1. 西南民族大学 生命科学与技术学院 四川 成都 610041)

(2. 江南大学 食品学院 江苏 无锡 214122)

(3. 黑龙江东方学院 食品科学与环境工程学院 黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘 要:** 【目的】研究抗菌肽 Buforin II 的衍生物 BF2-A/B 作用大肠杆菌后对胞内生物大分子合成的影响。【方法】紫外分光光度法检测抗菌肽对细胞 DNA、RNA 合成能力的影响, 考马斯亮蓝法检测抗菌肽对细胞总蛋白合成能力的影响, 分别用邻硝基苯- $\beta$ -D-吡喃半乳糖苷法和邻硝基苯磷酸二钠法检测抗菌肽对  $\beta$ -半乳糖苷酶及碱性磷酸酶表达活性的影响。【结果】BF2-A/B 不优先抑制 DNA 合成, 而是优先抑制 RNA 和蛋白的合成。在相同浓度下, BF2-B 抑制 RNA 合成的能力比 BF2-A 强, BF2-A 抑制蛋白合成的能力比 BF2-B 强。胞内酶  $\beta$ -半乳糖苷酶和碱性磷酸酶的表达活性都在下降。【结论】BF2-A/B 结合胞内核酸后, 没有首先影响 DNA 的复制功能, 而是优先抑制基因转录功能, 主要在转译水平上抑制蛋白的合成。

**关键词:** 抗菌肽, Buforin II, 大肠杆菌, 抑制, 大分子

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31172214); 中央高校基本科研业务基金项目(No. 11NZYQN30); 国家十二五支撑计划项目(No. 2012BAD33B05)

\*通讯作者: Tel: 86-28-88434002; 信箱: indianahg@hotmail.com

收稿日期: 2013-01-03; 接受日期: 2013-03-07

## Two analogues of the antimicrobial peptide buforin II inhibit bacterial macromolecular synthesis in *Escherichia coli*

HAO Gang<sup>1\*</sup> SHI Yong-Hui<sup>2</sup> MA Dan-Ya<sup>3</sup> LE Guo-Wei<sup>2</sup>

(1. College of Life Science and Technology, Southwest University for Nationalities, Chengdu, Sichuan 610041, China)

(2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

(3. College of Environmental Engineering and Food Science, Heilongjiang East University, Harbin, Heilongjiang 150086, China)

**Abstract:** [Objective] In this paper, the influence to bacteria intracellular macromolecular biosynthesis after antimicrobial peptides BF2-A and BF2-B, two analogues of buforin II, interacted with *E. coli* had been researched. [Methods] The influence of peptides on the synthesis of bacterial DNA and RNA had been determined by ultraviolet spectrophotometry. The influence of peptides on the synthesis of bacterial total protein had been determined by Coomassie brilliant blue method. Inhibition of  $\beta$ -galactosidase and alkaline phosphatase activities of *E. coli* cells by antibacterial peptides had been measured by ONPG and PNPP, respectively. [Results] Peptides didn't primarily influence the synthesis of DNA and there was a lag phase. Thus the preferential inhibition of biosynthesis of RNA and protein appeared to be the primary target of BF2-A/B and the effect of the peptides on DNA-synthesis appeared to be secondary. On the same concentration, BF2-B caused a more marked inhibition of RNA-synthesis than BF2-A. Interestingly, BF2-A induced a more remarkable inhibition of protein synthesis than BF2-B. The results of activity measuring of two endocellular enzymes,  $\beta$ -galactosidase and alkaline phosphatase, further proved that the biosynthesis of protein was inhibited. [Conclusion] Both peptides binding to nucleic acid didn't primarily inhibit the replication function of DNA, but primarily inhibit the transcription function of gene. Moreover, the preferential inhibition of protein-synthesis mostly embodied at the translation level.

**Keywords:** Antimicrobial peptide, Buforin II, *Escherichia coli*, Inhibition, Macromolecular

抗菌肽(Antimicrobial peptides, AMPs)是一类具有抗细菌或真菌等作用的生物活性肽,广泛存在于生物体内,具有分子量小、热稳定性好、不易产生抗体、对真核细胞无损害等优点。自20世纪70年代瑞典科学家 Boman 等<sup>[1]</sup>在天蚕血淋巴中首次发现抗菌肽后,人们相继在两栖动物、昆虫、鱼类、哺乳动物等<sup>[2-4]</sup>各种生物中发现了大量的抗菌肽。抗菌肽一直是生命科

学研究的热点之一,特别是在目前抗生素的耐药性日益严峻的情况下,抗菌肽的应用价值倍受重视。抗菌肽种类繁多,不同抗菌肽抑菌的作用机制不同,尚没有一个涵盖所有抗菌肽作用机理的理论。目前假设的作用机理有破坏细胞膜、抑制生物大分子的合成、破坏细胞器引起DNA断裂、抑制酶活性等。除此之外还有抑制细胞的呼吸作用,抑制细胞壁形成,以及通

过非膜性的外部靶点发挥作用。由于天然抗菌肽大多以细胞膜为主要作用靶点, 因此各国学者研究抑菌机理主要集中在膜作用机制上<sup>[5-6]</sup>。

Buforin II 是韩国学者 Park 等<sup>[7]</sup>从亚洲蟾蜍的胃组织中分离纯化的有 21 个氨基酸残基的抗菌肽。Buforin II 抗菌活性很强, 抗菌谱广<sup>[8]</sup>, Park 等在研究它的构效关系时, 在其 N-端截去了 4 个冗余残基后产生了一个衍生肽, 它的抑菌活性比 Buforin II 还要强<sup>[9]</sup>。在前期研究中, 我们将此衍生肽命名为 BF2-A (RAGLQFPVGRVHRLLRK), 并在其结构特征基础上, 设计并化学合成了一个新的衍生肽, 命名为 BF2-B (RAGLQFPLGRLLRRLRLRLR), 研究发现 BF2-B 的抗菌活性比 BF2-A 强, 杀菌也比 BF2-A 迅速<sup>[10]</sup>。我们已经研究了抗菌肽 BF2-A/B 对细菌细胞膜和细胞内的作用机制, 发现它们几乎不破坏细胞膜, 而是进入到细胞内, 作用胞内的核酸, 特别是 DNA, 来达到抑杀细菌的目的<sup>[11]</sup>。本文的主要研究内容是以大肠杆菌为研究对象, 研究抗菌肽 BF2-A/B 作用细菌后对 DNA、RNA 以及蛋白等生物大分子合成的影响, 分析其作用核酸后影响基因的功能部分, 并检测了对  $\beta$ -半乳糖苷酶和碱性磷酸酶表达活性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 抗菌肽 BF2-A/B:** 目的肽由上海波泰生物科技有限公司采用 Fmoc 固相化学合成法合成, RP-HPLC 分离纯化, 纯度 $\geq 95\%$ 。

**1.1.2 菌种:** 大肠杆菌(*Escherich coli* ATCC 25 922), 由本实验室提供。

**1.1.3 M9 乳糖诱导培养基 (g/100 mL):**  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.28,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.3,  $\text{NaCl}$  0.05,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.1,  $\text{MgSO}_4$  0.05,  $\text{CaCl}_2$  0.001, 乳糖 0.5。

$\beta$ -半乳糖苷酶反应缓冲液(g/100 mL):  $\text{NaCl}$  0.8,  $\text{KCl}$  0.02,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  0.29,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.024,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.025,  $\beta$ -巯基乙醇 0.39, pH 7.8。

**1.1.4 主要试剂和仪器:** 十六烷基三甲基溴化铵(CTAB), 厦门先瑞科技有限公司; 十二烷基硫酸钠(SDS), 乙二醇胺, 中国医药(集团)上海化学试剂公司; 对硝基苯磷酸二钠(PNPP), 考马斯亮蓝 R-250, Amersco 公司; 焦碳酸二乙酯(DEPC), 北京拜尔迪生物技术有限公司; 邻硝基苯- $\beta$ -D-吡喃半乳糖苷(ONPG), 上海生物工程有限公司; Zenyth 3100 荧光/化学发光分析仪, 美国 Anthos 公司。

### 1.2 抗菌肽作用大肠杆菌后对细胞 DNA 合成能力的影响

将培养至对数生长期后期的大肠杆菌离心, 生理盐水洗涤, 用新鲜的 LB 培养基重悬至  $1 \times 10^8$  CFU/mL, 移取 900  $\mu\text{L}$  菌悬液至 1.5 mL 离心管中, 分别加入 100  $\mu\text{L}$  抗菌肽 BF2-A/B, 使其终浓度分别为  $1 \times \text{MIC}$  (BF2-A 为 2 mg/L, BF2-B 为 1 mg/L) 和  $5 \times \text{MIC}$ ,  $37^\circ\text{C}$  孵育不同时间, 离心 3 min, 去上清<sup>[12]</sup>。以加入 100  $\mu\text{L}$  纯水作为阴性对照。采用 CTAB 法提取细菌基因组 DNA, 室温干燥, 重溶于 100  $\mu\text{L}$  的 TE 缓冲液<sup>[13]</sup>。用紫外分光光度计测  $OD_{260}$  及  $OD_{280}$ ,  $OD_{260}$  值为 1 相当于大约 50 mg/L 双链 DNA,  $OD_{260}/OD_{280}$  比值应为 1.7-1.9, 表示 DNA 纯度较高。实验重复 3 次, 数据取其平均值。

### 1.3 抗菌肽作用大肠杆菌后对细胞 RNA 合成能力的影响

将培养至对数生长期后期的大肠杆菌离心, 生理盐水洗涤, 用新鲜的 LB 培养基重悬至  $1 \times 10^8$  CFU/mL, 移取 900  $\mu\text{L}$  菌悬液至 1.5 mL 离心管中, 分别加入 100  $\mu\text{L}$  抗菌肽 BF2-A/B, 使其终浓度分别为  $1 \times \text{MIC}$  和  $5 \times \text{MIC}$ ,  $37^\circ\text{C}$  孵育不同时间, 离心 3 min, 去上清<sup>[12]</sup>。以加入

100  $\mu\text{L}$  纯水作为阴性对照。采用 Trizol 法提取细菌总 RNA, 室温干燥 5 min, 沉淀用 50  $\mu\text{L}$  DEPC- $\text{H}_2\text{O}$  溶解。提取出的 RNA 溶液用紫外分光光度仪测  $OD_{260}$  及  $OD_{280}$ ,  $OD_{260}/OD_{280}$  比值在 1.8–2.0, 视为抽提的 RNA 纯度很高。实验重复 3 次, 数据取其平均值<sup>[14]</sup>。

#### 1.4 抗菌肽作用大肠杆菌后对细胞总蛋白合成能力的影响

将培养至对数生长期后期的大肠杆菌离心, 生理盐水洗涤, 用新鲜的 LB 培养基重悬至  $1 \times 10^8$  CFU/mL, 移取 900  $\mu\text{L}$  菌悬液至 1.5 mL 离心管中, 分别加入 100  $\mu\text{L}$  抗菌肽 BF2-A/B, 使其终浓度分别为  $1 \times \text{MIC}$  和  $5 \times \text{MIC}$ ,  $37^\circ\text{C}$  孵育不同时间, 离心 3 min, 去上清<sup>[6–7]</sup>。以加入 100  $\mu\text{L}$  纯水作为阴性对照。将经抗菌肽处理的细菌用生理盐水洗涤 1 次, 离心去上清, 分别加入 50  $\mu\text{L}$  TE 缓冲液和 50  $\mu\text{L}$  10 g/L 溶菌酶, 使之重悬,  $37^\circ\text{C}$  温育 10 min。取出置冰浴中, 分别加入 400  $\mu\text{L}$  冰纯水和 500  $\mu\text{L}$  冰冷的 20% 三氯乙酸(TCA), 混匀冰浴 5 min。离心, 去上清, 加入 1 mL 冰冷的 10% TCA 悬浮, 离心弃上清, 将沉淀转移至干净的 10 mL 试管中, 加入 100  $\mu\text{L}$  0.15 mol/L 的 NaCl, 加 5 mL 考马斯亮蓝染色液(考马斯亮蓝 G-250 100 mg, 95%乙醇 50 mL, 85%磷酸 100 mL, 纯水稀释至 1 000 mL), 漩涡振荡混匀, 室温放置 1 h 后, 于 595 nm 处测吸光度值<sup>[15]</sup>。实验重复 3 次, 数据取其平均值。

#### 1.5 抗菌肽作用细菌后对 $\beta$ -半乳糖苷酶表达活性的影响

将培养至对数生长后期的待测大肠杆菌菌液取 10 mL 离心, 无菌生理盐水洗涤 2 次, 转移至 50 mL 的 M9 乳糖诱导培养基,  $37^\circ\text{C}$  振荡诱导培养 4–6 h 后离心。用新鲜的 M9 乳糖培养基重悬至  $OD=0.2$  ( $\lambda=630$  nm), 取 900  $\mu\text{L}$  至离心

管中, 分别加入 100  $\mu\text{L}$  抗菌肽 BF2-A/B, 使其终浓度为  $5 \times \text{MIC}$ , 以加入 100  $\mu\text{L}$  纯水作为阴性对照。 $37^\circ\text{C}$  孵育不同时间, 离心 3 min, 去上清。沉淀物加入 50  $\mu\text{L}$  10 g/L 溶菌酶和 50  $\mu\text{L}$  TE 缓冲液, 使之重悬,  $37^\circ\text{C}$  温育 10 min。将多个平行样收集并转移至烧杯中, 可适当加  $\beta$ -半乳糖苷酶反应缓冲液稀释, 置 200 W 超声波细胞粉碎机中, 冰浴, 间歇式超声 4 min。离心, 取上清液 50  $\mu\text{L}$  于 96 孔板中, 加入 100  $\mu\text{L}$   $\beta$ -半乳糖苷酶反应缓冲液, 再加入 50  $\mu\text{L}$  10 g/L 邻硝基苯- $\beta$ -D-吡喃半乳糖苷(ONPG), 混匀,  $37^\circ\text{C}$  孵育 1–2 h 至黄色产生, 加入 50  $\mu\text{L}$  1 mol/L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  终止反应, 用酶标仪检测 405 nm 处吸光度值<sup>[16]</sup>。

#### 1.6 抗菌肽作用细菌后对碱性磷酸酶表达活性的影响

将培养至对数生长期后期的大肠杆菌离心, 生理盐水洗涤, 用新鲜的 LB 培养基重悬至  $1 \times 10^8$  CFU/mL, 移取 900  $\mu\text{L}$  菌悬液至 1.5 mL 离心管中, 分别加入 100  $\mu\text{L}$  抗菌肽 BF2-A/B, 使其终浓度为  $5 \times \text{MIC}$ , 以加入 100  $\mu\text{L}$  纯水作为阴性对照。 $37^\circ\text{C}$  孵育不同时间, 离心 3 min, 去上清。沉淀物加入 50  $\mu\text{L}$  10 g/L 溶菌酶和 50  $\mu\text{L}$  TE 缓冲液, 使之重悬,  $37^\circ\text{C}$  温育 10 min, 再加 1 mL 生理盐水重悬。将多个平行样收集并转移至烧杯中, 置 200 W 超声波细胞粉碎机中, 冰浴, 间歇式超声 4 min。离心, 取上清液 70  $\mu\text{L}$  于 96 孔板中, 加入 100  $\mu\text{L}$  2 mol/L 乙二醇胺缓冲液(10 mL 乙二醇胺、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  102 mg, 50 mL 纯水溶解, 浓盐酸调 pH 至 10.0), 再加入 70  $\mu\text{L}$  10 g/L 对硝基苯磷酸二钠(PNPP), 混匀,  $37^\circ\text{C}$  孵育 15–60 min 至黄色产生, 加入 50  $\mu\text{L}$  1 mol/L NaOH 终止反应, 用酶标仪检测 405 nm 处吸光度值<sup>[16]</sup>。

2 结果与分析

2.1 抗菌肽作用细菌后对 DNA 合成的影响

在前期研究抗菌肽的胞内作用机制时,发现 BF2-A/B 都能结合 DNA 和 RNA<sup>[11]</sup>, 因此我们考察了抗菌肽结合核酸后对细菌胞内生物大分子合成的影响, 以此来研究抗菌肽影响的基因功能。首先研究抗菌肽作用大肠杆菌后对 DNA 合成的影响, 如图 1 所示。在没有加入抗菌肽的阴性对照中, DNA 的合成量总体上呈一个上升趋势, 细菌正常的合成 DNA, 进行分裂繁殖, 加入了抗菌肽 BF2-A/B 后, 基因组 DNA 的合成量总体呈下降趋势, DNA 的合成能被明显的抑制。但在前 20 min 内, 无论是 1×MIC 还是 5×MIC 的抗菌肽处理的细菌 DNA 的合成量依然在上升, 这说明抗菌肽并不优先抑制 DNA 合成, 而是存在一个滞后期, 40 min 后 DNA 的合成才会明显下降。BF2-A/B 抑制 DNA 合成的相差不大。大肠杆菌的分裂代时为 20 min, 大肠杆菌至少分裂了一代后, DNA 的合成才开始降低, 这说明抗菌肽结合 DNA 后并没有首先影响 DNA 的复制功能。

2.2 抗菌肽作用细菌后对 RNA 合成的影响

随后考察抗菌肽作用大肠杆菌后对 RNA 合成的影响, 如图 2 所示。在没有加入抗菌肽的阴性对照中, RNA 的合成呈上升趋势, 细菌基因组 DNA 在正常的转录 RNA。在加入抗菌肽 BF2-A/B 后, RNA 的合成都受到明显的抑制。在前 20 min 内, 1×MIC 的 BF2-A 处理的细菌 RNA 合成依然在轻微上升, 说明此浓度下 BF2-A 对 RNA 的合成抑制稍有滞后, 但 5×MIC 的 BF2-A 对 RNA 的合成却没有滞后期。无论是 1×MIC 还是 5×MIC, BF2-B 对 RNA 的合成都没有滞后期, 说明 BF2-B 能优先抑制 RNA 合成。相同浓度下 BF2-B 抑制 RNA 合成的能力要比 BF2-A 强, 高浓度的肽抑制 RNA 合成的能力比低浓度的肽强。结果说明 BF2-A/B 结合细菌基因组 DNA 后, 首先影响的是基因的转录功能。由于 BF2-B 结合 DNA 的能力比 BF2-A 强, 导致其抑制 DNA 转录的能力提高。

2.3 抗菌肽作用细菌后对总蛋白合成能力的影响

我们还考察了抗菌肽作用大肠杆菌后对细菌总蛋白合成的影响, 如图 3 所示。在没有加

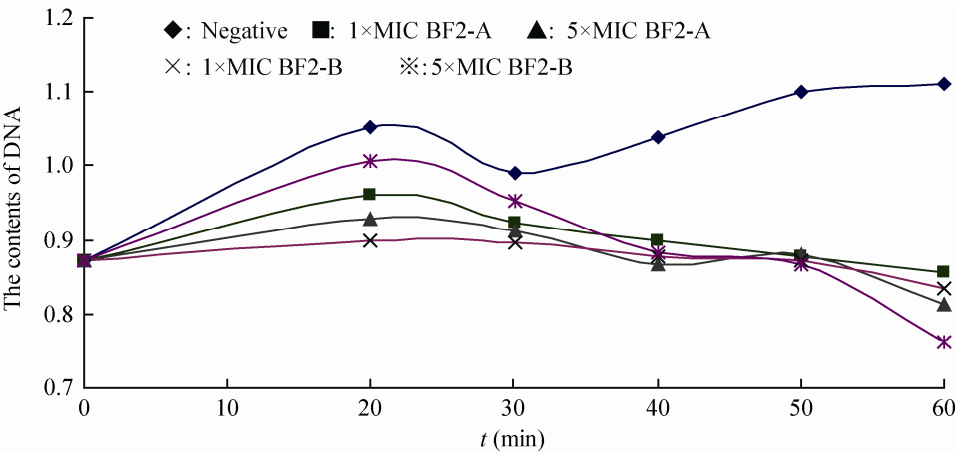


图 1 抗菌肽对细菌 DNA 合成能力的影响  
Fig. 1 The influence of peptides on the synthesis of bacterial DNA

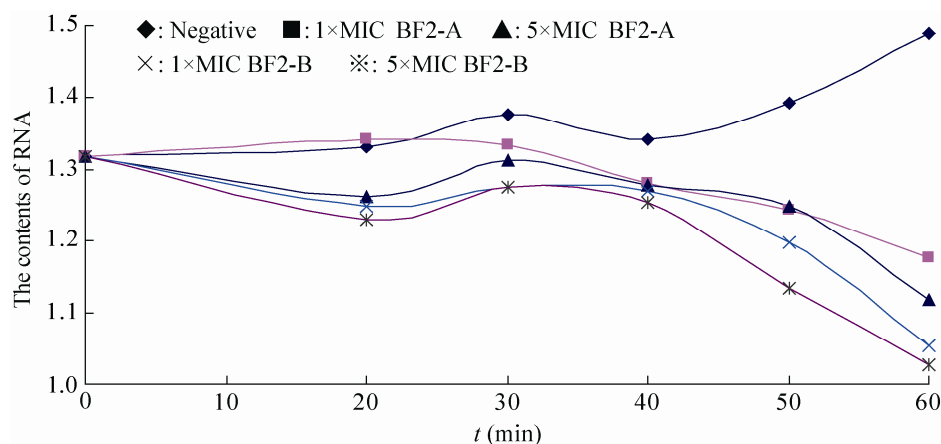


图2 抗菌肽对细菌 RNA 合成能力的影响

Fig. 2 The influence of peptides on the synthesis of bacterial RNA

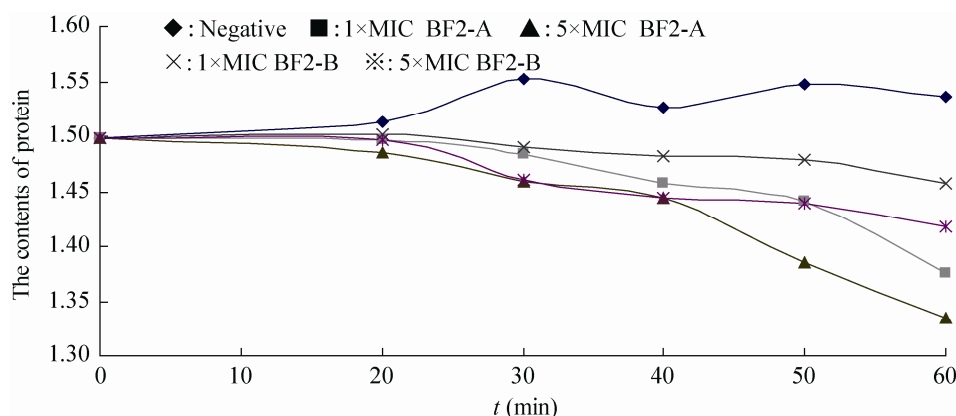


图3 抗菌肽对细菌总蛋白合成能力的影响

Fig. 3 The influence of peptides on the synthesis of bacterial total protein

入抗菌肽的阴性对照中,蛋白的含量呈稳定且略有上升的趋势,基因转录翻译的过程是正常的。加入 BF2-A 后,无论是  $1 \times \text{MIC}$  还是  $5 \times \text{MIC}$ ,蛋白合成量都在持续的下降,没有出现滞后期,说明 BF2-A 优先抑制蛋白的合成。加入 BF2-B 后的情况与 BF2-A 类似,也没有明显的滞后期,但是对蛋白合成的抑制没有 BF2-A 那么迅速和强烈。高浓度的肽抑制蛋白合成的能力比低浓度的肽强。实验证明抗菌肽结合 DNA 和 RNA 后,抑制了总蛋白的合成,这种抑制可能是转录水平的,也有可能

是翻译水平的。

## 2.4 抗菌肽作用细菌后对 $\beta$ -半乳糖苷酶表达活性的影响

我们检测了抗菌肽作用大肠杆菌后,两个常见的胞内酶—— $\beta$ -半乳糖苷酶和碱性磷酸酶的活性,以此来说明对酶表达活性的抑制。BF2-A/B 作用细菌后对  $\beta$ -半乳糖苷酶的表达抑制如图 4 所示。没有加抗菌肽的细菌  $\beta$ -半乳糖苷酶的表达稳步上升,而两个肽都能抑制  $\beta$ -半乳糖苷酶的表达,BF2-B 的抑制趋于平缓,相比而言 BF2-A 的抑制效果要稍强。

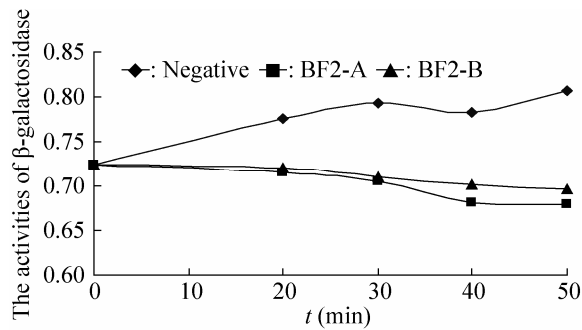


图4 抗菌肽对 $\beta$ -半乳糖苷酶表达活性的抑制

Fig. 4 Inhibition of  $\beta$ -galactosidase activities of *E. coli* cells by antibacterial peptides

### 2.5 抗菌肽作用细菌后对碱性磷酸酶表达活性的影响

抗菌肽作用细菌后对碱性磷酸酶的表达抑制如图5所示,没有加抗菌肽的阴性对照其碱性磷酸酶的表达持续增加。与 $\beta$ -半乳糖苷酶类似, BF2-A/B也能抑制碱性磷酸酶的表达,但抑制的程度似乎更强烈,可能是作用时间更久的缘故。总的来说 BF2-A抑制碱性磷酸酶的表达要比 BF2-B稍强。结合前面对 $\beta$ -半乳糖苷酶表达的抑制来看, BF2-A对酶的表达活性的抑制比 BF2-B强,这与 BF2-A/B抑制蛋白合成的能力的比较结果是一致的。

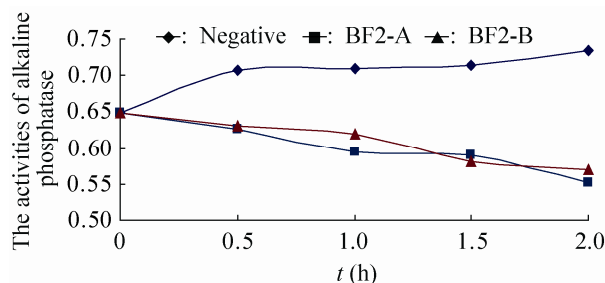


图5 抗菌肽对碱性磷酸酶表达活性的抑制

Fig. 5 Inhibition of alkaline phosphatase activities of *E. coli* cells by antibacterial peptides

## 3 讨论

在前期的研究中,我们发现 BF2-A/B都能结合胞内的核酸,并且 BF2-B结合 DNA的能力强于 BF2-A,而 BF2-A结合 RNA的能力强于 BF2-B<sup>[10-11]</sup>。在本文中我们考察了抗菌肽进入大肠杆菌结合核酸后对 DNA、RNA 以及蛋白质等生物大分子合成的影响。

BF2-A结合 DNA后并没有优先抑制 DNA的合成,即没有首先影响 DNA的复制功能,而是存在一个滞后期,它优先抑制 RNA的合成,即首先影响基因的转录功能。BF2-A结合核酸后,能优先抑制蛋白的合成,没有滞后期。随后检测到 BF2-A作用细菌后,两个常见的胞内酶, $\beta$ -半乳糖苷酶和碱性磷酸酶的活性都在下降,这说明酶的表达量在下降,进一步证明蛋白合成受到抑制。BF2-B结合 DNA后也是优先抑制 RNA的合成,经过一个滞后期后才抑制 DNA的合成。同时, BF2-B结合 DNA和 RNA后,也能优先抑制蛋白的合成,不存在滞后期。

实验结果显示 BF2-A/B抑制 DNA合成的能力相当,但在相同浓度下 BF2-B抑制 RNA合成的能力比 BF2-A强,这应该是由 BF2-B结合 DNA的能力强于 BF2-A。BF2-A/B结合 DNA,主要在转录水平上抑制了 RNA的合成。有可能是 BF2-A/B结合到 DNA转录相关功能的区域,也有可能是蛋白合成受抑制,导致转录因子、RNA合成酶等转录元件的缺失。从细菌中提取的 RNA大部分是核糖体 RNA,因此 BF2-A/B结合核糖体 RNA后会首先影响到总蛋白的合成,这能够解释抗菌肽处理细菌后蛋白合成的下降。BF2-A/B结合 DNA后抑制了基因转录成

RNA 的功能, 并且 BF2-B 的抑制能力比 BF2-A 更强, 如果抗菌肽仅在转录水平抑制蛋白的表达活性, 那么 BF2-B 抑制蛋白合成的能力就应该比 BF2-A 强。然而蛋白合成抑制实验表明, BF2-A 抑制蛋白的合成比 BF2-B 迅速强烈。因此我们认为, BF2-A/B 主要在翻译水平上抑制了蛋白的合成, 在前期研究中已发现 BF2-A 结合 RNA 的能力比 BF2-B 至少要强 4 倍, 所以 BF2-A 抑制蛋白合成的能力比 BF2-B 强。

## 参 考 文 献

- [1] Boman HG, Nilsson I, Rasmuson B. Inducible antibacterial defense system in *Drosophila*[J]. *Nature*, 1972, 237(5352): 232–235.
- [2] Yao Y, Vuong C, Kocianova S, et al. Characterization of the *Staphylococcus epidermidis* accessory-gene regulator response: quorum-sensing regulation of resistance to human innate host defense[J]. *Journal of Infectious Diseases*, 2006, 193(6): 841–848.
- [3] Novick RP. Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence[J]. *Molecular Microbiology*, 2003, 48(6): 1429–1449.
- [4] Osmanagaoglu O. Detection and characterization of leucocin oz, a new anti-listerial bacteriocin produced by *Leuconostoc carnosum* with a broad spectrum of activity[J]. *Food Control*, 2007, 18(2): 118–123.
- [5] Imura Y, Nishida M, Ogawa Y, et al. Action mechanism of tachyplesin I and effects of PEGylation[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2007, 1768(5): 1160–1169.
- [6] Hancock REW, Rozek A. Role of membranes in the activities of antimicrobial cationic peptides[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2002, 206(2): 143–149.
- [7] Park CB, Kim HS, Kim SC. A novel antimicrobial peptides from *Bufo bufo gargarizans*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1996, 218(2): 408–413.
- [8] Park CB, Kim HS, Kim SC. Mechanism of action of the antimicrobial peptide Buforin II: Buforin II kills microorganisms by penetrating the cell membrane and inhibiting cellular functions[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1998, 244(1): 253–257.
- [9] Park CB, Yi KS, Matsuzaki K, et al. Structure-activity analysis of buforin II, a histone H2A-derived antimicrobial peptide: the proline hinge is responsible for the cell-penetrating ability of buforin II [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.*, 2000, 97(15): 8245–8250.
- [10] Hao G, Shi YH, Tang YL, et al. The membrane action mechanism of analogs of the antimicrobial peptide buforin 2[J]. *Peptides*, 2009, 30(8): 1421–1427.
- [11] 郝刚, 唐雅丽, 施用晖, 等. 抗菌肽 Buforin II 衍生物与大肠杆菌基因组 DNA 的作用机制[J]. *微生物学报*, 2010, 50(3): 39–44.
- [12] Friedrich GL, Rozek A, Patrzykat A, et al. Structure and mechanism of action of an indolicidin peptide derivative with improved activity against gram-positive bacteria[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(2): 24015–24022.
- [13] 奥斯伯, 金斯顿, 赛得曼, 等. 精编分子生物学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 55–56.
- [14] Castle M, Nazarian A, Yi SS, et al. Lethal effects of apidaecin on *Escherichia coli* involve sequential



molecular interactions with diverse targets[J]. Infection and Immunity, 1993, 61(7): 2978-2984.

Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(46): 32555-32564.

[15] Boman HG, Agerberth B, Boman A. Mechanism of action on *Escherichia coli* of cecropin P1 and PR-39, two antibacterial peptides from pig intestine[J].

[16] Kragol G, Lovas S, Varadi G, et al. The antibacterial peptide pyrrothocorin inhibits the ATPase actions of DnaK and prevents chaperone-assisted protein folding[J]. Biochemistry, 2001, 40(10): 3016-3026.



编辑部公告

中国科学院微生物研究所期刊广告部简介

中国科学院微生物研究所期刊广告部于 2007 年 3 月正式成立，已取得北京市工商局正式批准的广告经营许可证(京朝工商广字第 8154 号)。广告部代理《生物工程学报》、《微生物学报》、《微生物学通报》、《菌物学报》四个期刊的广告经营业务，此四种期刊均为中国自然科学核心期刊，国内外公开发行，主要报道微生物学和生物技术领域的最新研究成果和研究动态，已被美国化学文摘(CA)、生物学文摘(BA)、医学索引(MEDLINE)、俄罗斯文摘杂志(AJ)及《中国学术期刊文摘》、《生物学文摘》等国内外著名数据库和检索期刊收录，是促进国内外学术交流的重要科技期刊。

广告刊登内容主要包括大型生化仪器(如显微镜、离心机、色谱仪、无菌操作台、大、中、小型发酵罐)、设备耗材(如 PCR 仪、细胞生物反应器、微量移液器、离心管、杂交膜)及生化试剂(如各种酶、载体、试剂盒)等的产品宣传信息，也可以发布生物技术人才招聘信息、会议消息、以及与生命科学有关的各类服务信息。广告部以严谨、诚信为原则，愿与从事生物技术产品生产与销售的各类厂商和公司精诚合作，共同发展。如有刊登广告的需要，欢迎与我们电话或 E-mail 联系获取各刊版位及报价信息！也可以登陆各刊网站，了解更多详情。

**提示：**各公司与此四刊签订的广告费用请汇入以下账号：  
收款单位：中国科学院微生物研究所  
开户银行：中国农业银行股份有限公司北京科学园支行  
帐 号：11251101040000848

中国科学院微生物研究所·期刊广告部  
联系电话：010-64807336；010-64806142  
联系人：武文 王闵  
电子信箱：gg@im.ac.cn  
网 址：http://journals.im.ac.cn