

猪 IL-18 在乳酸乳球菌中的表达及其生物活性的检测

马露, 乔薪瑗, 唐丽杰, 姜艳平, 崔文, 李一经

东北农业大学动物医学学院, 黑龙江 哈尔滨 150030

马露, 乔薪瑗, 唐丽杰, 等. 猪 IL-18 在乳酸乳球菌中的表达及其生物活性的检测. 生物工程学报, 2014, 30(10): 1541-1548.

Ma L, Qiao XY, Tang LJ, et al. Expression and biological activity detection of porcine interleukin-18 by recombinant *Lactococcus lactis*. Chin J Biotech, 2014, 30(10): 1541-1548.

摘要: 为了在乳酸乳球菌中分泌表达具有生物活性的猪 IL-18 蛋白, 并检测其生物活性, 故通过分离猪外周血单核淋巴细胞 (PBMC), 以其为模板, 采用 RT-PCR 方法扩增猪白细胞介素 18(*pIL-18*) 基因, 将目的基因与乳酸乳球菌表达载体 pAMJ399 进行连接, 并电转化至乳酸乳球菌 MG1363 中, 通过 SDS-PAGE 和 Western blotting 分析检测目的蛋白的表达, 并通过脾淋巴细胞增殖试验和细胞病变抑制法对 pIL-18 的生物活性进行检测。Western blotting 分析检测结果与生物活性检测结果显示, 在重组菌 pAMJ399-pIL18/MG1363 的上清和菌体沉淀中 19 kDa 处均出现 pIL-18 的特异蛋白反应带, 且分泌表达的 pIL-18 蛋白能明显促进猪脾淋巴细胞的增殖, 并对病毒增殖有明显的抑制作用。以上结果表明 pIL-18 可在乳酸乳球菌分泌表达, 且表达产物具有良好的生物活性。

关键词: 猪 IL-18, 乳酸乳球菌, 分泌表达, 生物活性

Expression and biological activity of porcine interleukin-18 in recombinant *Lactococcus lactis*

Lu Ma, Xinyuan Qiao, Lijie Tang, Yanping Jiang, Wen Cui, and Yijing Li

School of Veterinary Medicines, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China

Abstract: To obtain active protein of pIL-18 expression in *Lactococcus lactis*, and to observe its biological activity, the total RNA was extracted as template from peripheral blood mononuclear cells. Porcine interleukin 18 (pIL-18) was amplified by RT-PCR. The resulting fragment was cloned into pAMJ399 *L. lactis* vector, and then transformed to *L. lactis* MG1363 cells by

Received: February 1, 2014; **Accepted:** April 10, 2014

Supported by: Key Projects in the National Science and Technology Pillar Program in Rural Areas during the Twelfth Five-Year Plan Period (No. 2011AA10A213), Foundation for Dr. of Northeast Agricultural University (No. 2009RC59).

Corresponding author: Yijing Li. Tel: +86-451-55191704; E-mail: yijingli@163.com

“十二五”农村领域国家科技计划课题 (No.2011AA10A213), 东北农业大学博士启动基金 (No. 2009RC59) 资助。

electroporation. Expression of pIL-18 protein was detected by SDS-PAGE and Western-blotting. Bioactivity of the product was tested by pig spleen lymphocyte proliferation test and cytopathogenic effect inhibition assay. The result of Western blotting and bioactivity test shows that the molecular weight of pIL-18 protein was 19 kDa. The react line was observed in both supernatant and precipitated of the recombinant bacteria pAMJ399-pIL18/MG1363. The expressed pIL-18 can promote the proliferation of pig spleen lymphocyte, and significantly inhibit virus multiplication. As conclusion, porcine interleukin-18 was successfully expressed in *L. Lactis*, and the product was biologically active.

Keywords: porcine IL-18, *Lactococcus lactis*, secretory expression, biological activity

白介素-18 (Interleukin-18, IL-18) 是近年发现的一种细胞因子, 在机体免疫调控中具有重要的作用。1995 年日本学者 Okamura 等^[1]从裸鼠的肝细胞中克隆到 *mIL-18* 基因, 因其诱导 T 细胞产生 IFN- γ , 最初被称为 IFN- γ 诱生子, 1996 年被正式命名为 IL-18^[2-3]。IL-18 主要由活化的巨噬细胞和 Kupfer 细胞产生^[4], 作为多效性细胞因子^[5], 在促进 Th1 型细胞免疫反应及增强 NK 细胞活性方面具有重要作用, 是一种特异性的 Th1 免疫反应诱导因子^[6-7]。许多研究表明, IL-18 在增强免疫、抗肿瘤、抗病原微生物感染^[8]、抑制病毒活性^[2]等方面具有广阔的应用前景。近年来, Ogawa 等^[9]利用猪红斑丹毒丝菌表达了猪 IL-18, Shao 等^[10]利用真核系统表达了猪 IL-18, 并对其生物活性进行研究, Chen 等^[11]利用大肠杆菌表达系统对猪 IL-18 成熟蛋白进行表达, 抗病毒活性检测结果表明, 猪 IL-18 对猪伪狂犬病毒、猪细小病毒及猪繁殖与呼吸综合征病毒的增殖具有抑制作用。但上述系统表达的猪 IL-18 蛋白均需要纯化与复性等过程, 限制了其在生产实践中的应用。

本研究通过乳酸乳球菌 p170 系统表达 pIL-18, 该系统是由 pH 值和生长期调控, 不需要添加外源性的诱导物, 并能高效提升蛋白分泌的水平^[12-13], 外源蛋白通过分泌表达后, 无需纯化与复性等繁琐的操作过程, 拓宽了其在

生产实践中的应用。同时, 通过对其生物活性的研究, 为进一步将其应用于免疫调节剂和治疗剂提供了实验数据和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株与载体

分泌型表达载体质粒 pAMJ399, 乳酸乳球菌 MG1363, 大肠杆菌感受态 TG1, 均由本实验室保存。

1.1.2 酶及相关试剂

限制性内切酶 *Bgl* II、*Sal* I、DNA marker、蛋白分子质量标准等购自宝生物工程 (大连) 有限公司; 质粒提取试剂盒购自 Axygen; DNA 胶回收试剂盒购自百泰克; T4 DNA 连接酶、蛋白质分子量标准 (10-230 kDa), M-MLV 反转录酶购自 NEB 公司; HPR 标记的山羊抗鼠 IgG 购自北京中山金桥生物技术有限公司; 淋巴细胞分离液 (TBD 原装), 刀豆蛋白 A (ConA), RPMI1640 培养基购自 Hyclone 公司; TRIZOL Reagent RNA 提取试剂购自 Introgen 公司; 其他生化试剂均为国产分析纯产品; pIL-18 多抗为本实验室制备。

1.2 方法

1.2.1 引物设计与合成

利用 Primer 基因分析软件, 参照 GenBank

上基因序列号为 NM_213997.1 的猪 *IL-18* 基因序列,设计一对特异引物 P1、P2,并且在上下游引物 5'端分别加入 *Bgl*II 和 *Sal*I 酶切位点(下划线标注处为酶切位点)。上游引物 P1:AGATCT-TACTTTGGCAAGCTTG;下游引物 P2:GTCGAC-GAATATCTAGTTCTTGTTTTG。引物由哈尔滨博仕生物技术有限公司合成。

1.2.2 猪淋巴细胞的分离与总 RNA 的提取

取猪脾脏,剪碎,用研磨器研碎,匀浆液经 200 目铜网过滤,滤液经 12 000 r/min 离心 10 min,收集细胞,用 PBS 洗涤 2 次,最后用适量 PBS 溶解,沿试管壁轻轻加在等体积淋巴细胞分离液面上,2 000 r/min 离心 10 min,小心收集中间的细胞层,转入另一试管中,加入 0.5 mL PBS 混匀,8 000 r/min 离心 1 min,弃上清,用 PBS 洗涤细胞沉淀 2 次,弃上清,收集细胞,按照 TRIZOL Reagent 说明书提取总 RNA。

1.2.3 猪 *IL-18* 基因的克隆

将提取的细胞总 RNA 进行反转录,在 20 μ L 反应体系中分别加入以下成分:模板 RNA 12.5 μ L,5 \times 缓冲液 4 μ L,10 mmol/L dNTPs 1 μ L,RNase 抑制剂 0.5 μ L,下游引物 1 μ L,M-MLV 反转录酶 1 μ L,42 $^{\circ}$ C 孵育 1 h。将反转录产物用于 PCR 反应,扩增体系 50 μ L,其中 10 \times PCR 缓冲液 5 μ L,上下游引物各 1.5 μ L,dNTPs 4 μ L,模板 3 μ L,ddH₂O 35 μ L,*Taq* DNA 聚合酶 1 μ L;PCR 反应条件为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,循环参数为 94 $^{\circ}$ C 1 min,53 $^{\circ}$ C 1 min,72 $^{\circ}$ C 1 min,28 个循环后,72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,PCR 产物经 0.8%琼脂糖凝胶电泳分析鉴定。用凝胶回收试剂盒回收目的片段,回收产物与 pMD18-T Simple 载体连接,转化至大肠杆菌 TG1 中,提取质粒进行酶

切鉴定,鉴定正确的阳性重组质粒命名为 18Ts-pIL18,并送至博仕生物公司进行测序。

1.2.4 重组乳酸乳球菌表达载体的构建

将 18Ts-pIL18 重组质粒和 pAMJ399 载体经 *Bgl*II、*Sal*I 双酶切、胶回收,获得带有粘性末端的目的片段,16 $^{\circ}$ C 连接过夜,电转化乳酸乳球菌 MG1363,电转电压为 2.0 kV,将转化后的菌液涂布于 GM17 (含有红霉素 1 μ g/mL) 固体培养基,32 $^{\circ}$ C 厌氧培养 20 h,挑取菌落接种于 GM17 (含有红霉素 1 μ g/mL) 液体培养基,32 $^{\circ}$ C 厌氧培养过夜,提取质粒鉴定。将获得的重组乳酸乳球菌命名为 pAMJ399-pIL-18/MG1363。

1.2.5 目的基因在乳酸乳球菌中的诱导表达

挑取阳性重组菌 pAMJ399-pIL-18/MG1363 单菌落接种于 GM 17 (含有红霉素 1 μ g/mL) 液体培养基,32 $^{\circ}$ C 厌氧培养 20 h,按 1 : 50 的比例进行扩大培养 24 h 后终止培养。上清通过 TCA 的方法进行 10 倍浓缩,沉淀用溶菌酶处理,将处理好的上清和沉淀与 2 \times SDS 加样缓冲液混合后煮沸 10 min,经 12 000 r/min 离心 3 min,取 20 μ L 进行 SDS-PAGE 电泳分析,以蛋白质标准分子量为参考,并以同样方法处理的 pAMJ399/MG1363 乳酸乳球菌作为对照。SDS-PAGE 结束后,将凝胶上的蛋白转印至硝酸纤维素膜 (NC) 上,鼠源猪 IL-18 多克隆抗体 (1 : 500) 作为一抗,辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 (1 : 10 000) 作为二抗,DAB 显色,观察结果。

1.2.6 猪 *IL-18* 对脾淋巴细胞的增殖作用

采用猪脾淋巴细胞增殖试验对猪 *IL-18* 的生物活性进行检测。无菌取 2 周龄健康猪脾脏,用灭菌 PBS 洗涤 2 次,剪碎,经尼龙网过滤,红细胞裂解液处理后,稀释计数,用完全 1 640 培养液调整细胞密度至 1×10^6 – 5×10^6 个/mL,加至

96 孔细胞培养板, 然后加入 0.1 mL 终浓度分别为 3 mg/mL、1.5 mg/mL、750 μ g/mL、375 μ g/mL、180 μ g/mL、90 μ g/mL、45 μ g/mL、23 μ g/mL 的 pIL-18, 同时设阴性和空白对照组。将 96 孔板于 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 培养箱培养 60 h, 然后每孔加入 10 μ L MTT (5.0 mg/mL), 继续培养 4 h, 每孔加入 100 μ L DMSO, 混匀后振荡 3 min。以空白对照孔调零, 测定 OD₅₇₀ 值, 并计算平均值。

1.2.7 猪 IL-18 抗病毒活性的检测

参照文献[14]的方法测定 PrV、PEDV 在 Vero 细胞的半数细胞感染量 (TCID₅₀)。

参考干扰素抗病毒活性测定方法, 采用细胞病变抑制法^[15]进行抗病毒活性测定。将 Vero 细胞接种于 96 孔板, 待 Vero 细胞长至单层后, 弃去培养液, 每孔加入 0.1 mL 终浓度分别为 3 mg/mL、1.5 mg/mL、750 μ g/mL、375 μ g/mL、180 μ g/mL、90 μ g/mL、45 μ g/mL、23 μ g/mL 的 pIL-18, 每一稀释度接种 6 孔。将细胞培养板置于 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 细胞培养箱中培养 12 h 后, 弃去培养液, 用维持液洗涤 1 次, 然后分别加入 100TCID₅₀ 的 PEDV 和 PrV 各 100 μ L 继续培养, 未添加 pIL-18 组作为阴性对照, 未接种病毒组作为空白对照。待对照组 CPE 达到 75% 时, 经倒置显微镜观察结果并记录。弃上清, 每孔加入 10 μ L MTT (5.0 mg/mL) 培养 4 h 后, 每孔加入 100 μ L DMSO, 混匀, 振荡 3 min。以空白对照孔调零, 测定 OD₅₇₀ 值, 并计算平均值。

2 结果

2.1 SDS-PAGE 分析结果

重组菌 pAMJ399-pIL-18/MG1363 经 SDS-PAGE 分析后结果表明, 重组菌的上清和沉淀经电泳后, 均出现了 19 kDa 的蛋白条带, 结果见图 1。

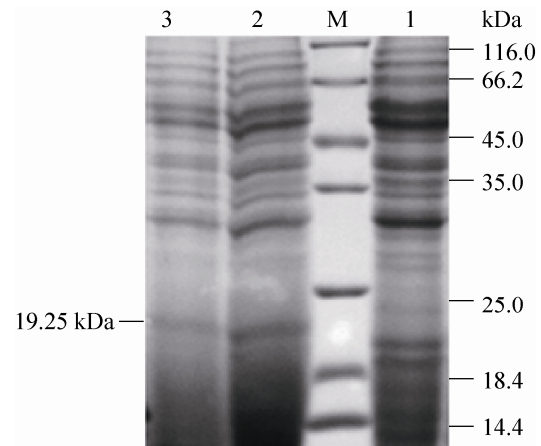


图 1 pIL-18 蛋白的 SDS-PAGE 分析结果

Fig. 1 SDS-PAGE analysis of porcine IL-18. M: protein molecular weight marker; 1: pAMJ399 vector transformed into MG1363 cells served as negative control; 2: MG1363 expressed recombinant pIL-18 protein in supernatant; 3: MG1363 expressed pIL-18 protein in precipitated.

2.2 Western blotting 鉴定结果

重组菌 pAMJ399-pIL-18/MG1363 经 Western blotting 检测后结果表明, 在重组菌上清和菌体沉淀的泳道均出现了 19 kDa 的特异蛋白反应条带, 表明 pIL18 基因在乳酸乳球菌中获得了分泌表达, 结果见图 2、图 3。

2.3 猪脾淋巴细胞增殖试验结果

脾淋巴细胞增殖试验结果表明, 猪 IL-18 蛋白能明显促进猪脾淋巴细胞的增殖, 当蛋白总浓度为 375 μ g/mL 时, 增殖效果最明显 (差异极显著**), 表明猪 IL-18 蛋白具有良好的生物学活性, 能够促进脾淋巴细胞的增殖, 结果见图 4。

2.4 抗病毒活性的检测结果

2.4.1 PEDV 和 PrV 的半数细胞感染量 (TCID₅₀) 的测定

按 Reed-Muench^[16]法分别计算 PEDV 和 PrV 的 TCID₅₀, 其 TCID₅₀ 依次为 10⁻⁴/0.1 mL 和 10⁻⁵/0.1 mL。

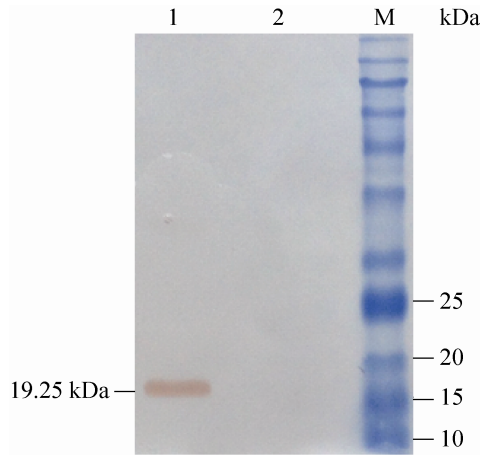


图 2 上清中 pIL-18 蛋白的 Western blotting 检测
 Fig. 2 Western blotting analysis of pIL-18 protein in supernatant. M: protein molecular weight marker; 1: MG1363 expressed pIL-18 protein in supernatant; 2: pAMJ399 vector transformed into MG1363 cells served as negative control.

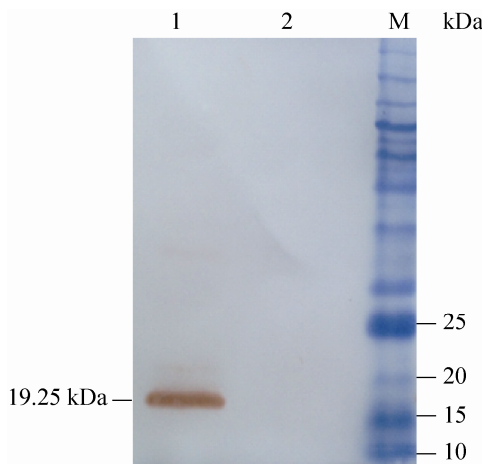


图 3 沉淀中 pIL-18 蛋白的 Western blotting 检测
 Fig. 3 Western blotting analysis of pIL-18 protein in precipitated. M: protein molecular weight marker; 1: MG1363 expressed pIL-18 protein in precipitated; 2: pAMJ399 vector transformed into MG1363 cells served as negative control.

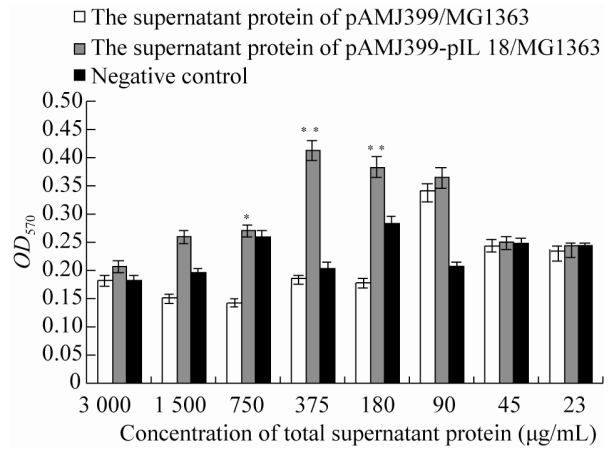


图 4 猪脾淋巴细胞增殖试验结果
 Fig. 4 Result of lymphocyte's proliferation with pIL-18 protein.

2.4.2 抗病毒活性的检测结果

采用细胞病变抑制法进行抗病毒活性的检测，结果表明，猪 IL-18 能有效抑制病毒复制，表现出良好的抗病毒活性。经统计分析，与对照组相比，差异极显著，结果见图 5 和图 6。

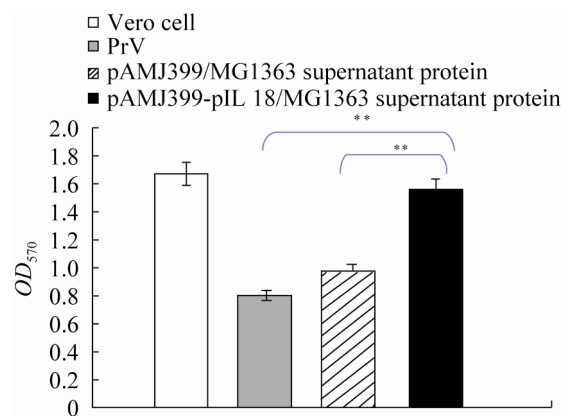


图 5 MTT 法检测 pIL-18 蛋白的抗 PrV 活性
 Fig. 5 Anti-PrV activity of pIL-18 detected by MTT method.

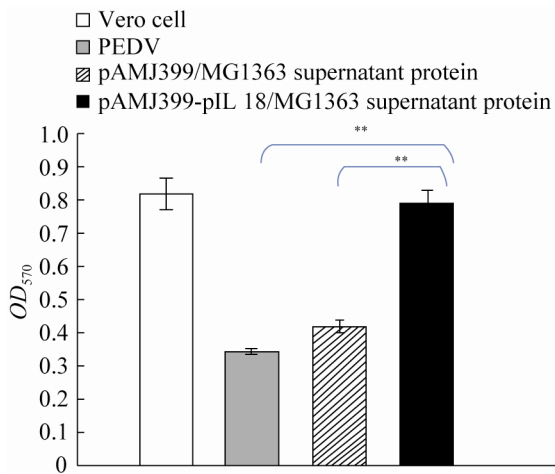


图6 MTT法检测pIL-18蛋白的抗PEDV活性
Fig. 6 Anti-PEDV activity of pIL-18 detected by MTT method.

3 讨论

IL-18是近年来新发现的一种重要的细胞免疫调节因子, IL-18是由单核巨噬细胞、枯否氏细胞、肺泡巨噬细胞和树突突细胞等产生的一种具有多种免疫生物学功能的细胞因子,能够诱导NK细胞、T细胞及枯否氏细胞产生IFN- γ ,增强NK细胞杀伤活性以及Th1细胞的细胞毒活性,并可进一步增强其抗病毒、抗肿瘤的功能^[17-19];同时可诱导某些细胞系MHC类分子的表达或抑制细胞病变的出现,促进细胞抗病毒及其他胞内病原菌的感染^[20-21]。因此,IL-18在抗病毒、抗肿瘤、抗炎症、抗自身免疫性疾病及分子免疫佐剂作用等方面具有巨大的应用潜力^[22-23]。

有研究报道, *pIL-18* 基因在大肠杆菌中获得了表达,但主要以包涵体形式存在^[24],需要对其进行纯化、复性才能应用,且蛋白纯化步骤复杂繁琐,在纯化过程中也会损失大量蛋白。

本研究采用乳酸乳球菌分泌型表达载体pAMJ399,通过酸诱导启动P170启动子,将pH值调节到适宜的范围即可自动诱导表达^[25],且表达蛋白能分泌到上清中,仅需简单离心即可获得表达蛋白,省去了提取包涵体的繁琐过程,减少了工作量,为应用于大规模生产降低了成本。

通过猪脾淋巴细胞增殖试验和抗病毒活性的检测,表明pIL-18能有效刺激脾淋巴细胞的增殖,并能有效抑制病毒的增殖。同时,pIL-18自身具有无毒、高效、速效的佐剂特征,仅需微量即可发挥相应的生物功能^[26-27],因此,pIL-18作为一种新型免疫调节剂,具有巨大的应用潜力和广阔的应用前景。本研究的开展为其作为免疫调节剂的深入研究和应用奠定了基础。

REFERENCES

- [1] Okamura H, Tsutsui H, Komatsu T, et al. Cloning of a new cytokine that induces IFN- γ production by T cells. *Nature*, 1995, 378(6552): 88-91.
- [2] Dao T, Ohashi K, Kayano T, et al. Interferon-gamma-inducing factor, a novel cytokine, enhances Fas ligand-mediated cytotoxicity of murine T helper 1 cells. *Cell Immunol*, 1996, 173(2): 230.
- [3] Ushio S, Namba M, Okura T, et al. Cloning of the cDNA for human IFN-gamma-inducing factor, expression in *Escherichia coli*, and studies on the biologic activities of the protein. *J Immunol*, 1996, 156(11): 4274-4279.
- [4] Sun WM, Wang HQ. *Cell Factor Methodology*. Beijing: People's Health Press, 1997: 536 (in Chinese).
孙卫民, 王惠琴. *细胞因子研究方法学*. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 536.
- [5] Sun WC. *Progress in the studies of Interleukin-18*. Foreign Medical Science: Section of Clinic

- Biochemistry & Medical Test, 2000, 21(2): 57–59.
- [6] Tsutsui H, Nakanishi K, Matsui K, et al. IFN-gamma-inducing factor up-regulates Fas ligand-mediated cytotoxic activity of murine natural killer cell clones. *J Immunol*, 1996, 157(9): 3967–3973.
- [7] Takeda K, Tsutsui H, Yoshimoto T, et al. Defective NK cell activity and Th1 response in IL-18-deficient mice. *Immunity*, 1998, Mar: 8(3): 383–390.
- [8] Chen JQ. 092 IL-18 and anti-tumor effects. *Foreign Medical-Immunology Volume*, 2000, 23(4): 239–243 (in Chinese).
陈吉泉. 092 IL-18 及其抗肿瘤作用. *国外医学: 免疫学分册*, 2000, 23(4): 239–243.
- [9] Ogawa Y, Minagawa Y, Shi F, et al. Immunostimulatory effects of recombinant *Erysipelothrix rhusiopathiae* expressing porcine interleukin-18 in mice and pigs. *Clin Vaccine Immunol*, 2012, 19(9): 1393–1398.
- [10] Shao PF, Cui P, Zheng LL, et al. Construction of eukaryotic expression plasmid of porcine IL-18 gene and identification of bioactivity of its expressed protein. *J Northwest A & F Univ Nat Sci Ed*, 2009, 37(12): 85–90.
- [11] Chen HY, Zheng LL, Jin Y, et al. Expression of porcine IL-18 mature protein in *Escherichia coli* and identification of its bioactivity. *J Mol Sci*, 2009, 25(4): 284–289 (in Chinese).
陈红英, 郑兰兰, 金钺, 等. 猪 IL-18 成熟蛋白在大肠杆菌中的表达及生物学活性鉴定. *分子科学学报*, 2009, 25(4): 284–289.
- [12] Ravn P, Arnau J, Madsen SM, et al. The development of TnNuc and its use for the isolation of novel secretion signals in *Lactococcus lactis*. *Gene*, 2000, 242(1): 347–356.
- [13] Ravn P, Arnau J, Madsen SM, et al. Optimization of signal peptide SP310 for heterologous protein production in *Lactococcus lactis*. *Microbiology*, 2003, 149(8): 2193–2201.
- [14] Yin Z, Liu JH. *Animal Virology*. 2nd Edition. Beijing: Science Press, 1997: 631 (in Chinese).
- 殷震, 刘景华. *动物病毒学*. 2 版. 北京: 科学出版社, 1997: 631.
- [15] Cao RB, Xu XQ, Zhou B, et al. Genetically modified and efficient prokaryotic expression of porcine interferon - α 1. *Chin J Biotech*, 2004, 20(2): 291–294 (in Chinese).
曹瑞兵, 徐学清, 周斌, 等. 猪 α 1-干扰素的基因改造与高效原核表达. *生物工程学报*, 2004, 20(2): 291–294.
- [16] Gu Y, Kuida K, Tsutsui H, et al. Activation of interferon- γ inducing factor mediated by interleukin-1 β converting enzyme. *Science*, 1997, 275(5297): 206–209.
- [17] Dinarello CA. Interleukin-18, a proinflammatory cytokine. *European cytokine network*, 2000, 11(3): 483–486.
- [18] Ni XL, Jin DY. Interleukin-18 research advances in cancer therapy. *Outside the foreign branch of medical science*, 2002, 29: 222–224 (in Chinese).
倪晓凌, 靳大勇. 白细胞介素 18 在肿瘤治疗中的研究进展. *国外医学外科学分册*, 2002, 29: 222–224.
- [19] Kawakami K, Qureshi MH, Zhang T, et al. IL-18 protects mice against pulmonary and disseminated infection with *Cryptococcus neoformans* by inducing IFN-gamma production. *J Immunol*, 1997, 159(11): 5528–5534.
- [20] Kobayashi K, Nakata N, Kai M, et al. Decreased expression of cytokines that induce type 1 helper T cell/Interferon- γ responses in genetically susceptible mice infected with *Mycobacterium avium*. *Clin Immunol Immunopathol*, 1997, 85(1): 112–116.
- [21] Zhang T, Kawakami K, Qureshi MH, et al. Interleukin-12 (IL-12) and IL-18 synergistically induce the fungicidal activity of murine peritoneal exudate cells against *Cryptococcus neoformans* through production of gamma interferon by natural killer cells. *Infect Immun*, 1997, 65(9): 3594–3599.
- [22] Zheng M, Jin NY, Zhang YH, et al. The clone and

its expression of porcine IL-18 mature protein gene in *Escherichia coli*. Chin J Vet Sci, 2003, 23: 430-432 (in Chinese).

郑敏, 金宁一, 张洪勇, 等. 猪白细胞介素 18 成熟蛋白基因的克隆及在大肠杆菌中的表达. 中国兽医学报, 2003, 23: 430-432.

- [23] Yuan HJ, Hu RL, Bao SJ, et al. Cloning and immunological characteristics of canine IL-18 cDNA. J Cell Mol Immunol, 2004, 20(5): 526-529 (in Chinese).

袁慧君, 扈荣良, 包世俊, 等. 犬 IL-18 cDNA 的克隆及其免疫学特性. 细胞与分子免疫学杂志, 2004, 20(5): 526-529.

- [24] Pei JF, Chen RA, Tang XY, et al. The expression of porcine interleukin-18 gene and the purification of its recombinant protein. Chin J Vet Drug, 2007,

41(2): 5-9 (in Chinese).

裴仇福, 陈瑞爱, 唐秀英, 等. 猪白细胞介素-18 基因表达及重组蛋白的纯化. 中国兽药杂志, 2007, 41(2): 5-9.

- [25] Brisson G, Britten M, Pouliot Y. Heat-induced aggregation of bovine lactoferrin at neutral pH: effect of iron saturation. Inter Dairy J, 2007, 17(6): 616-617.

- [26] Bohn E, Sing A, Zumbihl R, et al. IL-18 (IFN- γ -inducing factor) regulates early cytokine production in, and promotes resolution of, bacterial infection in mice. J Immunol, 1998, 160(1): 299-307.

- [27] Guidotti LG. The role of cytotoxic T cells and cytokines in the control of hepatitis B virus infection. Vaccine, 2002, 20: A80-A82.

(本文责编 郝丽芳)



《生物工程学报》网站开通 Email-Alert 功能

期刊在线阅读

最新录用
当期目录
过刊浏览
高级检索
Email-Alert

《生物工程学报》目前已开通 E-mail 订阅功能, 可根据您的需求免费发送本刊当期最新目录。如需订阅, 请登陆网址 :<http://journals.im.ac.cn/cjbcn>, 点击“Email-Alert”, 输入您的接收邮箱即可, 如果您不需要, 也可以随时退订。

E-mail 订阅

本网站目前已开通 E-mail 订阅功能, 可根据您的需求自动地发送本刊当期目录。如果您不需要, 您可以退订。

E-mail:

订阅/退订