aaa tat aag

[0099] aca ggc

[0100] 3'-5'(SEQ ID NO.20)

[0101] gcc tgt ctt ata ttt tat tta AGA CTG GGA CGT ATG CAC CGG TCT GGT tcc gat cca cag tcc ctg

[0102] acc

[0103] 【实施例 2】新型抗生素对脑膜炎双球菌的抑制作用

[0104] 细菌为中国菌种保存中心 29332 脑膜炎双球菌株，菌液 2 微升（10^5CFU/ml）加入兔血巧克力培养液 10 毫升（牛肉浸膏 50mg、胰蛋白胨 100mg、$KH_2PO_4$30mg、NaCl 50mg、脱纤维兔血 0.5-0.8ml）中，共准备 5 组，第一组加入 0.3MNaCl+50mM 硼酸缓冲液（即新型抗生素的空白保存液，量与实验组中加入的新型抗生素液体量相同）作为对照，第二组加入 5μg/ml 氨苄青霉素，第三组加入 5μg/ml PMC-AM1，第四组加入 5μg/mlPMC-AM2，第五组加入 10μg/ml PMC-AM1。

[0105] 上述各组液体分别置于 100 毫升三角烧瓶中，200rpm，37℃生长，每小时采样 100 微升加入 96 孔酶表板中经分光光度计（A595nm）比色测试细菌生长浊度，画出细菌生长曲线来比较新型抗生素的抑菌效力，结果如图 4 所示，显示所试脑膜炎双球菌只能被 PMC-AM1 所抑制。

[0106] 【实施例 3】新型抗生素对多重耐药绿脓杆菌的最低抑菌浓度与现用抗菌素的最低抑菌浓度之比较。

[0107] 采用琼脂二倍稀释法测定新型抗生素的最低抑菌浓度（MIC）。用多点接种仪（DeneleyA400）将细菌接种于含不同药物浓度的琼脂平皿表面，每点含菌量为 10^5CFU/ml，37℃孵育 18-24 小时观察结果，以无细菌生长平皿培养基中所含药物的最低浓度为药物对该菌的最低抑菌浓度（MIC 值）。

[0108] 所用菌种为多重耐药绿脓杆菌（华西医院临床分离株 13578），培养基为 MH 培养基（每百毫升：牛肉浸膏 500mg、酪蛋白酸水解物 1.75g、可溶性淀粉 150mg、琼脂 1.7g）。

[0109] 结果如图 5 所示，新型抗生素（D）（PMC-AM1）对多重耐药绿脓杆菌的最低抑菌浓度为 8μg/ml、头孢它啶（A）为 16μg/ml、左氧氟沙星（B）为 8μg/ml、庆大霉素（C）大于 512μg/ml。若以分子量标化，PMC-AM1 对多重耐药绿脓杆菌的最低抑菌浓度为 0.23nMol、头孢它啶为 29.3nMol、左氧氟沙星为 43.2nMol、庆大霉素大于 890nMol；即，PMC-AM1 对多重耐药绿脓杆菌的抗菌效力强过头孢它啶、左氧氟沙星、庆大霉素等现用抗菌素 127-3800 余倍。

[0110] 【实施例 4】新型抗生素的体外抗菌活性与现用抗菌素的比较

[0111] 采用琼脂二倍稀释法测定新型抗生素的最低抑菌浓度（MIC）。用多点接种仪（DeneleyA400）将细菌接种于含不同药物浓度的琼脂平皿表面，每点含菌量为 10^5CFU/ml，37℃孵育 18-24 小时观察结果，以无细菌生长平皿培养基中所含药物的最低浓度为药物对该菌的最低抑菌浓度（MIC 值）。

[0112] 所用菌种为多重耐药绿脓杆菌（华西医院临床分离株 13578），MH 培养基（每百毫升含牛肉浸膏 500mg、酪蛋白酸水解物 1.75g、可溶性淀粉 150mg、琼脂 1.7g）；耐甲氧西林金葡菌（ATCC BAA-42），BM 培养基（每百毫升含胰蛋白胨 1g、酵母 0.5g、葡萄糖 0.1g、NaCl

1g、KH_2PO_4 100mg、琼脂 1g）；耐万古霉素肠球菌（ATCC 700802），MH 培养基；脑膜炎双球菌（中国菌种保存中心 29332），培基同实施例 2（另加哥伦比亚血琼脂基础 3.9g）。

[0113] 结果如图 6 所示，A 图为脑膜炎双球菌，(1)PMC-AM1，MIC = 0.11nMol，(2) 头孢它啶，MIC = 3.02nMol，(3) 氨苄青霉素，MIC = 1.35nMol；B 图为耐万古霉素肠球菌，(1)PMC-AM1，MIC = 0.23nMol，(2) 万古霉素，MIC = 21.54nMol，(3) 氨苄青霉素，MIC = 10.78nMol；C 图为耐甲氧西林金葡菌，(1)PMC-AM1，MIC = 0.06nMol，(2) 氨苄青霉素，MIC = 21.55nMol，(3) 苯唑西林，MIC = 14.1nMol；D 图为多重耐药绿脓杆菌，(1)PMC-AM1，MIC = 0.91nMol，(2) 左氧氟沙星，MIC = 43.2nMol，(3) 头孢它啶，MIC = 29.3nMol，(4) 庆大霉素，MIC > 889.4nMol。

[0114] 【实施例 5】新型抗生素的体外抗菌活性与抗金葡菌多肽和野生型大肠菌素 Ia 的比较

[0115] 采用琼脂二倍稀释法测定新型抗生素的最低抑菌浓度（MIC）。以无细菌生长平皿培养基中所含药物的最低浓度为药物对该菌的最低抑菌浓度（MIC 值）。

[0116] 所用菌种为多重耐药绿脓杆菌（华西医院临床分离株 13578），耐甲氧西林金葡菌（ATCCBAA-42），耐万古霉素肠球菌（ATCC 700802），MH 培养基；脑膜炎双球菌（中国菌种保存中心 29332），培基同实施例 4。

[0117] 结果如图 7 所示，A 图为耐万古霉素肠球菌，(1) 抗金葡菌多肽，MIC = 0.91nMol，(2) 野生型大肠菌素 Ia，MIC = 0.91nMol，(3)PMC-AM1，MIC = 0.23nMol；B 图为耐甲氧西林金葡菌，(1) 抗金葡菌多肽，MIC = 0.06nMol，(2) 野生型大肠菌素 Ia，MIC = 0.23nMol，(3)PMC-AM1，MIC = 0.06nMol；C 图为多重耐药绿脓杆菌，(1) 抗金葡菌多肽，MIC = 0.91nMol，(2) 野生型大肠菌素 Ia，MIC = 0.91nMol，(3)PMC-AM1，MIC = 0.23nMol。

[0118] 【实施例 6】新型抗生素的脑膜炎双球菌感染动物的体内保护试验

[0119] 一、实验材料

[0120] (1) 药物

[0121] PMC-AM1、庆大霉素、青霉素。

[0122] (2) 细菌

[0123] 脑膜炎双球菌（中国菌种中心（北京天坛国家药监局中检所）29332）。

[0124] 二、实验方法

[0125] 如图 7 所示，实验组共 40 只昆明小鼠，分为 4 个实验组，每组 10 只。腹腔注射葡萄糖亚铁溶液（20mg/kg）1 个小时后，再注射 0.5ml 菌液。该菌液由 1 份脑膜炎双球菌培养液（CFU 为 2.36×10^9）比 1.5 份灭活 5％干酵母溶液组成。腹腔注射致死剂量的细菌 1 小时后，尾静脉注射药物以及对照生理盐水（所有药物注射浓度均为 1.5mg/kg），每 2 小时观察结果，连续 8 天，以小鼠死亡为阳性结果。

[0126] 如图 7 所示：1PMC-AM1，本发明新型抗生素；2Gen，庆大霉素；3PEN，青霉素；4Con.，对照。

[0127] 三、结果

[0128] 如图 7 所示小鼠生存曲线，腹腔注射致死剂量脑膜炎双球菌后，1），对照组在 2 天内全部死亡，2），青霉素组在 2 天内全部死亡，3），庆大霉素组 8 天存活率为 50％，4），本发明新型抗生素的 8 天存活率为 90％。

[0129] 结果显示，对脑膜炎双球菌致死性感染，本发明的新型抗生素 PMC-AM1 表现出了所试现用抗生素无法比拟的抗菌活性。

[0130] 附录：

[0131] SEQUENCE LISTING

[0132] <110> 畿晋庆三联（北京）生物技术有限公司

[0133] <120> 一种含抗体模拟物的新型抗生素及其制备方法与应用

[0134] <130>P09326/JJQ

[0135] <160>20

[0136] <170>PatentIn version 3.3

[0137] <210>1

[0138] <211>81

[0139] <212>DNA

[0140] <213> 抗体模拟物 AM1 的核苷酸序列

[0141] <400>1

[0142] tcttattggc tgcattggat taaacagaga cctggtcagg gactgtggat cggatctcag 60

[0143] tccacgcatg tgccgagaac c 81

[0144] <210>2

[0145] <211>27

[0146] <212>PRT

[0147] <213> 抗体模拟物 AM1 的氨基酸序列

[0148] <400>2

[0149] Ser Tyr Trp Leu His Trp Ile Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Trp

[0150] Ile Gly Ser Gln Ser Thr His Val Pro Arg Thr

[0151] <210>3

[0152] <211>81

[0153] <212>DNA

[0154] <213> 抗体模拟物 AM2 核苷酸序列

[0155] <400>3

[0156] tcttattggc tgcattggat taaacagaga cctggtcagg gactgtggat cggaaccaga 60

[0157] ccggtgcata cgtcccagtc t 81

[0158] <210>4

[0159] <211>27

[0160] <212>PRT

[0161] <213> 抗体模拟物 AM2 的氨基酸序列

[0162] <400>4

[0163] Ser Tyr Trp Leu His Trp Ile Gls Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Trp

[0164] Ile Gly Thr Arg Pro Val His Thr Ser Gln Ser

[0165] <210>5

[0166] <211>1959

[0167] <212>DNA

[0168] <213> 抗生素 PMC-AM1 的基因序列

[0169] <400>5

[0170] atgtctgacc ctgtacgtat tacaaatccc ggtgcagaat cgctggggta tgattcagat 60

[0171] ggccatgaaa ttatggccgt tgatatttat gtaaaccctc cacgtgtcga tgtctttcat 120

[0172] ggtaccccgc ctgcatggag ttccttcggg aacaaaacca tctggggcgg aaacgagtgg 180

[0173] gttgatgatt ccccaacccg aagtgatatc gaaaaaaggg acaaggaaat cacagcgtac 240

[0174] aaaaacacgc tcagcgcgca gcagaaagag aatgagaata agcgtactga agccggaaaa 300

[0175] cgcctctctg cggcgattgc tgcaagggaa aaagatgaaa acacactgaa aacactccgt 360

[0176] gccggaaacg cagatgccgc tgatattaca cgacaggagt tcagactcct gcaggcagag 420

[0177] ctgagagaat acggattccg tactgaaatc gccggatatg acgccctccg gctgcataca 480

[0178] gagagccgga tgctgtttgc tgatgctgat tctcttcgta tatctccccg ggaggccagg 540

[0179] tcgttaatcg aacaggctga aaaacggcag aaggatgcgc agaacgcaga caagaaggcc 600

[0180] gctgatatgc ttgctgaata cgagcgcaga aaaggtattc tggacacccg gttgtcagag 660

[0181] ctggaaaaaa atggcggggc agcccttgcc gttcttgatg cacaacaggc ccgtctgctc 720

[0182] gggcagcaga cacggaatga cagggccatt tcagaggccc ggaataaact cagttcagtg 780

[0183] acggaatcgc ttaacacggc ccgtaatgca ttaaccagag ctgaacaaca gctgacgcaa 840

[0184] cagaaaaaca cgcctgacgg caaaacgata gtttcccctg aaaaattccc ggggcgttca 900

[0185] tcaacaaatc attctattgt tgtgagcggt gatccgagat ttgccggtac gataaaaatc 960

[0186] acaaccagcg cagtcatcga taaccgtgca aacctgaatt atcttctgag ccattccggt 1020

[0187] ctggactata aacgcaatat tctgaatgac cggaatccgg tggtgacaga ggatgtggaa 1080

[0188] ggtgacaaga aaatttataa tgctgaagtt gctgaatggg ataagttacg gcaaagattg 1140

[0189] cttgatgcca gaaataaaat cacctctgct gaatctgcgg taaattcggc gagaaataac 1200

[0190] ctcagtgcca gaacaaatga gcaaaagcat gcaaatgacg ctcttaatgc cctgttgaag 1260

[0191] gaaaaagaga atatacgtaa ccagctttcc ggcatcaatc agaagatagc ggaagagaaa 1320

[0192] agaaaacagg atgaactgaa ggcaacgaaa gacgcaatta atttcacaac agagttcctg 1380

[0193] aaatcagttt cagaaaaata tggtgcaaaa gctgagcagt tagccagaga gatggccggg 1440

[0194] caggctaaag ggaagaaaat acgtaatgtt gaagaggcat taaaaacgta tgaaaagtac 1500

[0195] cgggctgaca ttaacaaaaa aattaatgca aaagatcgtg cagcgattgc cgcagccctt 1560

[0196] gagtctgtga agctgtctga tatatcgtct aatctgaaca gattcagtcg gggactggga 1620

[0197] tatgcaggaa aatttacaag tcttgctgac tggatcactg agtttggtaa ggctgtccgg 1680

[0198] acagagaact ggcgtcctct ttttgttaaa acagaaacca tcatagcagg caatgccgca 1740

[0199] acggctcttg tggcactggt cttcagtatt cttaccggaa gcgctttagg cattatcggg 1800

[0200] tatggtttac tgatggctgt caccggtgcg ctgattgatg aatcgcttgt ggaaaaagcg 1860

[0201] aataagttct ggggtatttc ttattggctg cattggatta aacagagacc tggtcaggga 1920

[0202] ctgtggatcg gatctcagtc cacgcatgtg ccgagaacc 1959

[0203] <210>6

[0204] <211>651

[0205] <212>PRT

[0206] <213>抗生素 PMC-AM1 的氨基酸序列

[0207] <400>6

[0208] Ser Asp Pro Val Arg Ile Thr Asn Pro Gly Ala Glu Ser Leu Gly Tyr

[0209] Asp Ser Asp Gly His Glu Ile Met Ala Val Asp Ile Tyr Val Asn Pro

[0210] Pro Arg Val Asp Val Phe His Gly Thr Pro Pro Ala Trp Ser Ser Phe

[0211] Gly Asn Lys Thr Ile Trp Gly Gly Asn Glu Trp Val Asp Asp Ser Pro

[0212] Thr Arg Ser Asp Ile Glu Lys Arg Asp Lys Glu Ile Thr Ala Tyr Lys

[0213] Asn Thr Leu Ser Ala Gln Gln Lys Glu Asn Glu Asn Lys Arg Thr Glu

[0214] Ala Gly Lys Arg Leu Ser Ala Ala Ile Ala Ala Arg Glu Lys Asp Glu

[0215] Asn Thr Leu Lys Thr Leu Arg Ala Gly Asn Ala Asp Ala Ala Asp Ile

[0216] Thr Arg Gln Glu Phe Arg Leu Leu Gln Ala Glu Leu Arg Glu Tyr Gly

[0217] Phe Arg Thr Glu Ile Ala Gly Tyr Asp Ala Leu Arg Leu His Thr Glu

[0218] Ser Arg Met Leu Phe Ala Asp Ala Asp Ser Leu Arg Ile Ser Pro Arg

[0219] Glu Ala Arg Ser Leu Ile Glu Gln Ala Glu Lys Arg Gln Lys Asp Ala

[0220] Gln Asn Ala Asp Lys Lys Ala Ala Asp Met Leu Ala Glu Tyr Glu Arg

[0221] Arg Lys Gly Ile Leu Asp Thr Arg Leu Ser Glu Leu Glu Lys Asn Gly

[0222] Gly Ala Ala Leu Ala Val Leu Asp Ala Gln Gln Ala Arg Leu Leu Gly

[0223] Gln Gln Thr Arg Asn Asp Arg Ala Ile Ser Glu Ala Arg Asn Lys Leu

[0224] Ser Ser Val Thr Glu Ser Leu Asn Thr Ala Arg Asn Ala Leu Thr Arg

[0225] Ala Glu Gln Gln Leu Thr Gln Gln Lys Asn Thr Pro Asp Gly Lys Thr

[0226] Ile Val Ser Pro Glu Lys Phe Pro Gly Arg Ser Ser Thr Asn His Ser

[0227] Ile Val Val Ser Gly Asp Pro Arg Phe Ala Gly Thr Ile Lys Ile Thr

[0228] Thr Ser Ala Val Ile Asp Asn Arg Ala Asn Leu Asn Tyr Leu Leu Ser

[0229] His Ser Gly Leu Asp Tyr Lys Arg Asn Ile Leu Asn Asp Arg Asn Pro

[0230] Val Val Thr Glu Asp Val Glu Gly Asp Lys Lys Ile Tyr Asn Ala Glu

[0231] Val Ala Glu Trp Asp Lys Leu Arg Gln Arg Leu Leu Asp Ala Arg Asn

[0232] Lys Ile Thr Ser Ala Glu Ser Ala Val Asn Ser Ala Arg Asn Asn Leu

[0233] Ser Ala Arg Thr Asn Glu Gln Lys His Ala Asn Asp Ala Leu Asn Ala

[0234] Leu Leu Lys Glu Lys Glu Asn Ile Arg Asn Gln Leu Ser Gly Ile Asn

[0235] Gln Lys Ile Ala Glu Glu Lys Arg Lys Gln Asp Glu Leu Lys Ala Thr

[0236] Lys Asp Ala Ile Asn Phe Thr Thr Glu Phe Leu Lys Ser Val Ser Glu

[0237] Lys Tyr Gly Ala Lys Ala Glu Gln Leu Ala Arg Glu Met Ala Gly Gln

[0238] Ala Lys Gly Lys Lys Ile Arg Asn Val Glu Glu Ala Leu Lys Thr Tyr

[0239] Glu Lys Tyr Arg Ala Asp Ile Asn Lys Lys Ile Asn Ala Lys Asp Arg

[0240] Ala Ala Ile Ala Ala Ala Leu Glu Ser Val Lys Leu Ser Asp Ile Ser

[0241] Ser Asn Leu Asn Arg Phe Ser Arg Gly Leu Gly Tyr Ala Gly Lys Phe

[0242] Thr Ser Leu Ala Asp Trp Ile Thr Glu Phe Gly Lys Ala Val Arg Thr

[0243] Glu Asn Trp Arg Pro Leu Phe Val Lys Thr Glu Thr Ile Ile Ala Gly

[0244] Asn Ala Ala Thr Ala Leu Val Ala Leu Val Phe Ser Ile Leu Thr Gly

[0245] Ser Ala Leu Gly Ile Ile Gly Tyr Gly Leu Leu Met Ala Val Thr Gly

[0246] Ala Leu Ile Asp Glu Ser Leu Val Glu Lys Ala Asn Lys Phe Trp Gly

[0247] Ile Ser Tyr Trp Leu His Trp Ile Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu

[0248] Trp Ile Gly Ser Gln Ser Thr His Val Pro Arg

[0249] <210>7

[0250] <211>1959

[0251] <212>DNA

[0252] <213> 编码新型抗生素 PMC-SA2 的核苷酸序列

[0253] <400>7

[0254] atgtctgacc ctgtacgtat tacaaatccc ggtgcagaat cgctggggta tgattcagat 60

[0255] ggccatgaaa ttatggccgt tgatatttat gtaaaccctc cacgtgtcga tgtctttcat 120

[0256] ggtaccccgc ctgcatggag ttccttcggg aacaaaacca tctggggcgg aaacgagtgg 180

[0257] gttgatgatt ccccaacccg aagtgatatc gaaaaaaggg acaaggaaat cacagcgtac 240

[0258] aaaaacacgc tcagcgcgca gcagaaagag aatgagaata agcgtactga agccggaaaa 300

[0259] cgcctctctg cggcgattgc tgcaagggaa aaagatgaaa acacactgaa aacactccgt 360

[0260] gccggaaacg cagatgccgc tgatattaca cgacaggagt tcagactcct gcaggcagag 420

[0261] ctgagagaat acggattccg tactgaaatc gccggatatg acgccctccg gctgcataca 480

[0262] gagagccgga tgctgtttgc tgatgctgat tctcttcgta tatctccccg ggaggccagg 540

[0263] tcgttaatcg aacaggctga aaaacggcag aaggatgcgc agaacgcaga caagaaggcc 600

[0264] gctgatatgc ttgctgaata cgagcgcaga aaaggtattc tggacacccg gttgtcagag 660

[0265] ctggaaaaaa atggcggggc agcccttgcc gttcttgatg cacaacaggc ccgtctgctc 720

[0266] gggcagcaga cacggaatga cagggccatt tcagaggccc ggaataaact cagttcagtg 780

[0267] acggaatcgc ttaacacggc ccgtaatgca ttaaccagag ctgaacaaca gctgacgcaa 840

[0268] cagaaaaaca cgcctgacgg caaaacgata gtttcccctg aaaaattccc ggggcgttca 900

[0269] tcaacaaatc attctattgt tgtgagcggt gatccgagat ttgccggtac gataaaaatc 960

[0270] acaaccagcg cagtcatcga taaccgtgca aacctgaatt atcttctgag ccattccggt 1020

[0271] ctggactata aacgcaatat tctgaatgac cggaatccgg tggtgacaga ggatgtggaa 1080

[0272] ggtgacaaga aaatttataa tgctgaagtt gctgaatggg ataagttacg gcaaagattg 1140

[0273] cttgatgcca gaaataaaat cacctctgct gaatctgcgg taaattcggc gagaaataac 1200

[0274] ctcagtgcca gaacaaatga gcaaaagcat gcaaatgacg ctcttaatgc cctgttgaag 1260

[0275] gaaaaagaga atatacgtaa ccagctttcc ggcatcaatc agaagatagc ggaagagaaa 1320

[0276] agaaaacagg atgaactgaa ggcaacgaaa gacgcaatta atttcacaac agagttcctg 1380

[0277] aaatcagttt cagaaaaata tggtgcaaaa gctgagcagt tagccagaga gatggccggg 1440

[0278] caggctaaag ggaagaaaat acgtaatgtt gaagaggcat taaaaacgta tgaaaagtac 1500

[0279] cgggctgaca ttaacaaaaa aattaatgca aaagatcgtg cagcgattgc cgcagccctt 1560

[0280] gagtctgtga agctgtctga tatatcgtct aatctgaaca gattcagtcg gggactggga 1620

[0281] tatgcaggaa aatttacaag tcttgctgac tggatcactg agtttggtaa ggctgtccgg 1680

[0282] acagagaact ggcgtcctct ttttgttaaa acagaaacca tcatagcagg caatgccgca 1740

[0283] acggctcttg tggcactggt cttcagtatt cttaccggaa gcgctttagg cattatcggg 1800

[0284] tatggtttac tgatggctgt caccggtgcg ctgattgatg aatcgcttgt ggaaaaagcg 1860

[0285] aataagttct ggggtatttc ttattggctg cattggatta aacagagacc tggtcaggga 1920

[0286] ctgtggatcg gaaccagacc ggtgcatacg tcccagtct 1959

[0287] <210>8

[0288] <211>651

[0289] <212>PRT

[0290] <213> 抗生素 PMC-SA2 的氨基酸序列

[0291] <400>8

[0292] Ser Asp Pro Val Arg Ile Thr Asn Pro Gly Ala Glu Ser Leu Gly Tyr

[0293] Asp Ser Asp Gly His Glu Ile Met Ala Val Asp Ile Tyr Val Asn Pro

[0294] Pro Arg Val Asp Val Phe His Gly Thr Pro Pro Ala Trp Ser Ser Phe

[0295] Gly Asn Lys Thr Ile Trp Gly Gly Asn Glu Trp Val Asp Asp Ser Pro

[0296] Thr Arg Ser Asp Ile Glu Lys Arg Asp Lys Glu Ile Thr Ala Tyr Lys

[0297] Asn Thr Leu Ser Ala Gln Gln Lys Glu Asn Glu Asn Lys Arg Thr Glu

[0298] Ala Gly Lys Arg Leu Ser Ala Ala Ile Ala Ala Arg Glu Lys Asp Glu

[0299] Asn Thr Leu Lys Thr Leu Arg Ala Gly Asn Ala Asp Ala Ala Asp Ile

[0300] Thr Arg Gln Glu Phe Arg Leu Leu Gln Ala Glu Leu Arg Glu Tyr Gly

[0301] Phe Arg Thr Glu Ile Ala Gly Tyr Asp Ala Leu Arg Leu His Thr Glu

[0302] Ser Arg Met Leu Phe Ala Asp Ala Asp Ser Leu Arg Ile Ser Pro Arg

[0303] Glu Ala Arg Ser Leu Ile Glu Gln Ala Glu Lys Arg Gln Lys Asp Ala

[0304] Gln Asn Ala Asp Lys Lys Ala Ala Asp Met Leu Ala Glu Tyr Glu Arg

[0305] Arg Lys Gly Ile Leu Asp Thr Arg Leu Ser Glu Leu Glu Lys Asn Gly

[0306] Gly Ala Ala Leu Ala Val Leu Asp Ala Gln Gln Ala Arg Leu Leu Gly

[0307] Gln Gln Thr Arg Asn Asp Arg Ala Ile Ser Glu Ala Arg Asn Lys Leu

[0308] Ser Ser Val Thr Glu Ser Leu Asn Thr Ala Arg Asn Ala Leu Thr Arg

[0309] Ala Glu Gln Gln Leu Thr Gln Gln Lys Asn Thr Pro Asp Gly Lys Thr

[0310] Ile Val Ser Pro Glu Lys Phe Pro Gly Arg Ser Ser Thr Asn His Ser

[0311] Ile Val Val Ser Gly Asp Pro Arg Phe Ala Gly Thr Ile Lys Ile Thr

[0312] Thr Ser Ala Val Ile Asp Asn Arg Ala Asn Leu Asn Tyr Leu Leu Ser

[0313] His Ser Gly Leu Asp Tyr Lys Arg Asn Ile Leu Asn Asp Arg Asn Pro

[0314] Val Val Thr Glu Asp Val Glu Gly Asp Lys Lys Ile Tyr Asn Ala Glu

[0315] Val Ala Glu Trp Asp Lys Leu Arg Gln Arg Leu Leu Asp Ala Arg Asn

[0316] Lys Ile Thr Ser Ala Glu Ser Ala Val Asn Ser Ala Arg Asn Asn Leu

[0317] Ser Ala Arg Thr Asn Glu Gln Lys His Ala Asn Asp Ala Leu Asn Ala

[0318] Leu Leu Lys Glu Lys Glu Asn Ile Arg Asn Gln Leu Ser Gly Ile Asn

[0319] Gln Lys Ile Ala Glu Glu Lys Arg Lys Gln Asp Glu Leu Lys Ala Thr

[0320] Lys Asp Ala Ile Asn Phe Thr Thr Glu Phe Leu Lys Ser Val Ser Glu

[0321] Lys Tyr Gly Ala Lys Ala Glu Gln Leu Ala Arg Glu Met Ala Gly Gln

[0322] Ala Lys Gly Lys Lys Ile Arg Asn Val Glu Glu Ala Leu Lys Thr Tyr

[0323] Glu Lys Tyr Arg Ala Asp Ile Asn Lys Lys Ile Asn Ala Lys Asp Arg

[0324] Ala Ala Ile Ala Ala Ala Leu Glu Ser Val Lys Leu Ser Asp Ile Ser

[0325] Ser Asn Leu Asn Arg Phe Ser Arg Gly Leu Gly Tyr Ala Gly Lys Phe

[0326] Thr Ser Leu Ala Asp Trp Ile Thr Glu Phe Gly Lys Ala Val Arg Thr

[0327] Glu Asn Trp Arg Pro Leu Phe Val Lys Thr Glu Thr Ile Ile Ala Gly

[0328] Asn Ala Ala Thr Ala Leu Val Ala Leu Val Phe Ser Ile Leu Thr Gly

[0329] Ser Ala Leu Gly Ile Ile Gly Tyr Gly Leu Leu Met Ala Val Thr Gly

[0330] Ala Leu Ile Asp Glu Ser Leu Val Glu Lys Ala Asn Lys Phe Trp Gly

[0331] Ile Ser Tyr Trp Leu His Trp Ile Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu

[0332] Trp Ile Gly Thr Arg Pro Val His Thr Ser Gln

[0333] <210>9

[0334] <211>69

[0335] <212>DNA

[0336] <213> 构建突变质粒 pBHC-PorA1 的人工序列 5′ -3′

[0337] <400>9

[0338] gcgaataagt tctggggtat ttcttattgg ctgcattgga ttaaacagta aataaattat 60

[0339] aagacaggc <210>10

[0340] <211>69

[0341] <212>DNA

[0342] <213> 构建突变质粒 pBHC-PorA1 的人工序列 3′ -5′

[0343] <400>10

[0344] gcctgtctta tattttattt actgtttaat ccaatgcagc caataagaaa taccccagaa 60

[0345] cttattcgc 69

[0346] <210>11

[0347] <211>69

[0348] <212>DNA

[0349] <213> 构建突变质粒 pBHC-PorA1 的人工序列 5′ -3′

[0350] <400>11

[0351] tggctgcatt ggattaaaca gagacctggt cagggactgt ggatcggata aataaaatat 60

[0352] aagacaggc 69

[0353] <210>12

[0354] <211>69

[0355] <212>DNA

[0356] <213> 构建突变质粒 pBHC-PorA1 的人工序列 3′ -5′

[0357] <400>12

[0358] gcctgtctta tattttattt atccgatcca cagtccctga ccaggtctct gtttaatcca 60

[0359] atgcagcca 69

[0360] <210>13

[0361] <211>69

[0362] <212>DNA

[0363] <213> 构建突变质粒 pBHC-PorA1 的人工序列 5′ -3′

[0364] <400>13

[0365] ggtcagggac tgtggatcgg atctcagtcc acgcatgtgc cgagaaccta aataaaatat 60

[0366] aagacaggc 69

[0367] <210>14

[0368] <211>69

[0369] <212>DNA

[0370] <213> 构建突变质粒 pBHC-PorA1 的人工序列 3′ -5′

[0371] <400>14

[0372] gcctgtctta tattttattt aggttctcgg cacatgcgtg gactgagatc cgatccacag 60

[0373] tccctgacc 69

[0374] <210>15

[0375] <211>69

[0376] <212>DNA

[0377] <213> 构建突变质粒 pBHC-PorA2 的人工序列 5′ -3′

[0378] <400>15

[0379] gcgaataagt tctggggtat ttcttattgg ctgcattgga ttaaacagta aataaaatat 60

[0380] aagacaggc 69

[0381] <210>16

[0382] <211>69

[0383] <212>DNA

[0384] <213> 构建突变质粒 pBHC-PorA2 的人工序列 3′ -5′

[0385] <400>16

[0386] gcctgtctta tattttattt actgtttaat ccaatgcagc caataagaaa taccccagaa 60

[0387] cttattcgc 69

[0388] <210>17

[0389] <211>69

[0390] <212>DNA

[0391] <213> 构建突变质粒 pBHC-PorA2 的人工序列 5′ -3′

[0392] <400>17

[0393] tggctgcatt ggattaaaca gagacctggt cagggactgt ggatcggata aataaaatat 60

[0394] aagacaggc 69

[0395] <210>18

[0396] <211>69

[0397] <212>DNA

[0398] <213> 构建突变质粒 pBHC-PorA2 的人工序列 3′ -5′

[0399] <400>18

[0400] gcctgtctta tatttt attt atccgatcca cagtccctga ccaggtctct gtttaatcca 60

[0401] atgcagcca 69

[0402] <210>19

[0403] <211>69

[0404] <212>DNA

[0405] <213> 构建突变质粒 pBHC-PorA2 的人工序列 5′ -3′

[0406] <400>19

[0407] ggtcagggac tgtggatcgg aaccagaccg gtgcatacgt cccagtctta aataaaatat 60

[0408] aagacaggc 69

[0409] <210>20

[0410] <211>69

[0411] <212>DNA

[0412] <213> 构建突变质粒 pBHC-PorA2 的人工序列 3′ -5′

[0413] <400>20

[0414] gcctgtctta tattttattt aagactggga cgtatgcacc ggtctggttc cgatccacag 60

[0415] tccctgacc 69。

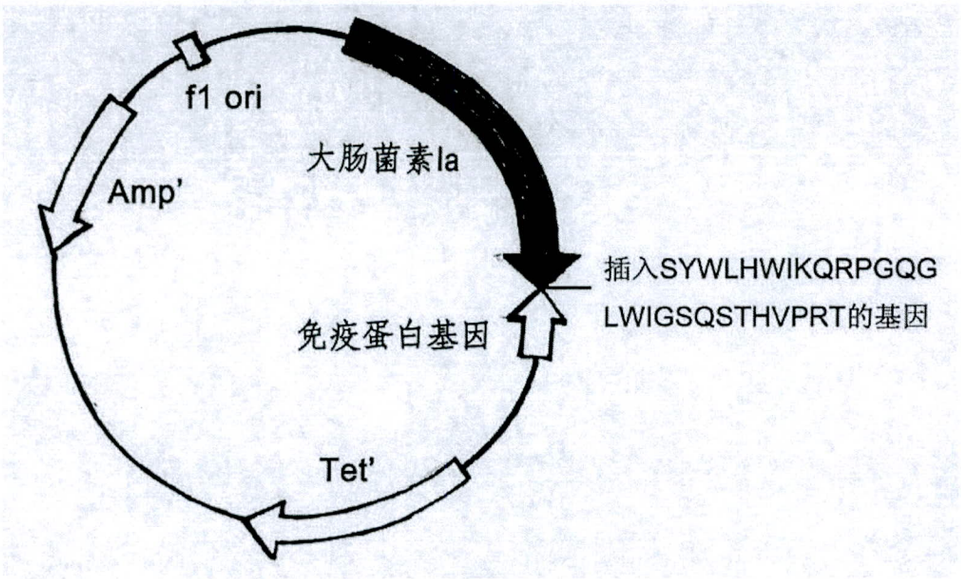

f1 ori
大肠菌素Ia
Amp'
插入SYWLHWIKQRPGQG
LWIGSQSTHVPRT的基因
免疫蛋白基因
Tet'

图 1

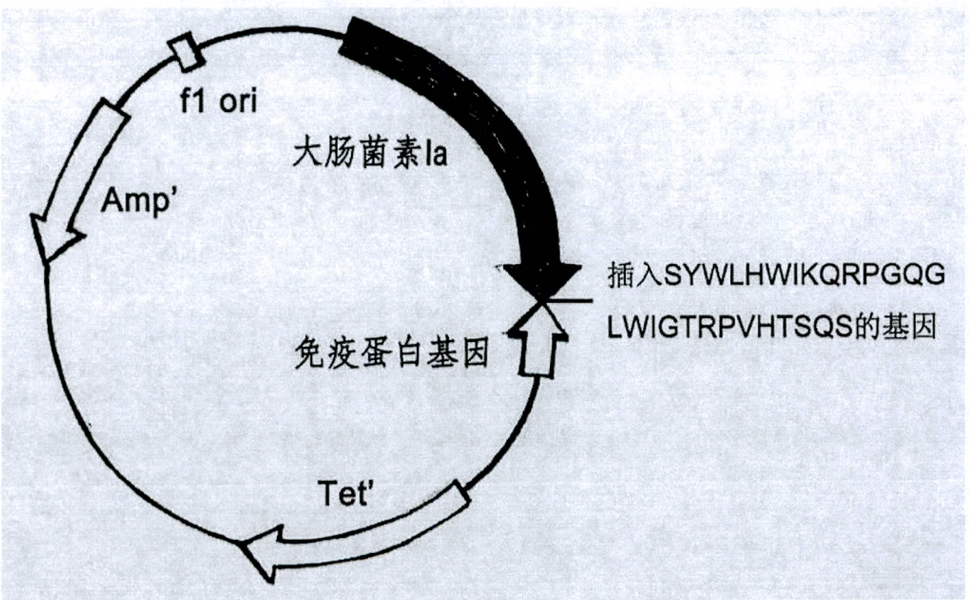

f1 ori
大肠菌素Ia
Amp'
插入SYWLHWIKQRPGQG
LWIGTRPVHTSQS的基因
免疫蛋白基因
Tet'

图 2

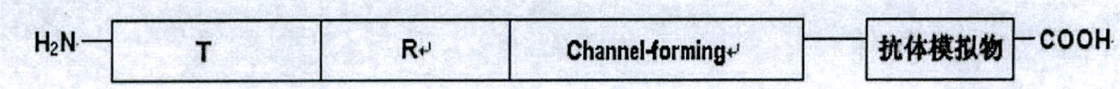

H2N
T
R
Channel-forming
抗体模拟物
COOH

图 3

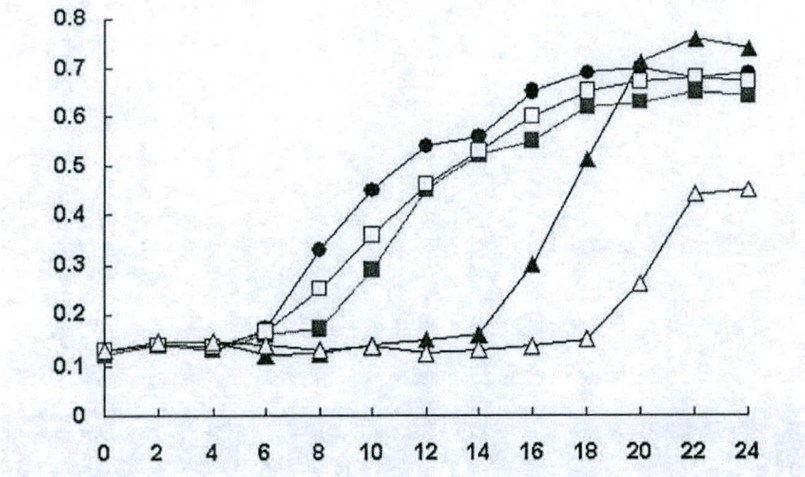

0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24

图 4

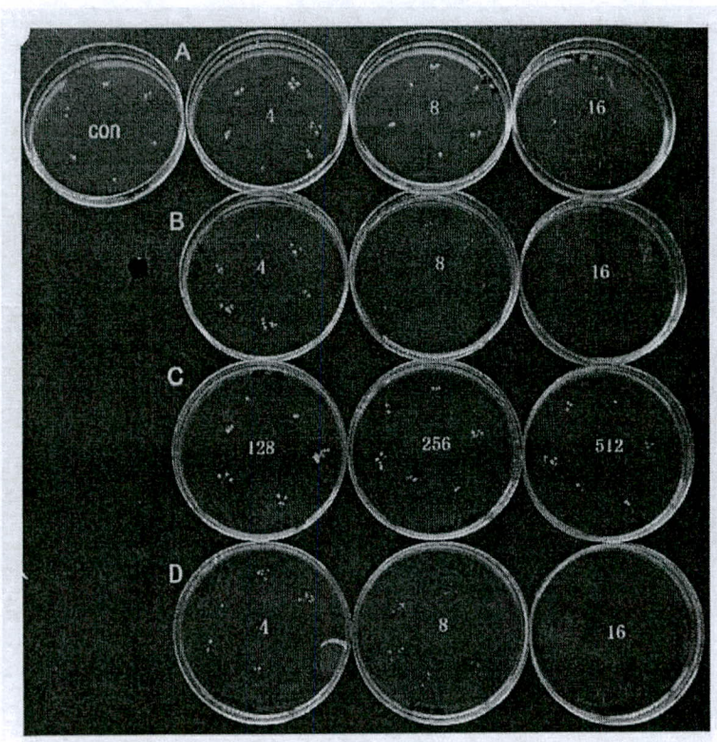

A
con
4
8
16
B
4
8
16
C
128
256
512
D
4
8
16

图 5

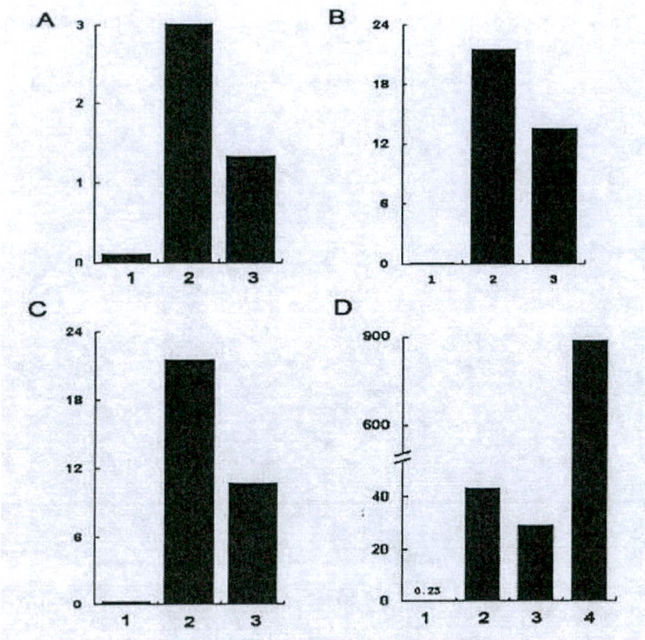

A
3
2
1
0
1 2 3
B
24
18
12
6
0
1 2 3
C
24
18
12
6
0
1 2 3
D
900
600
40
20
0
0.23
1 2 3 4

图 6

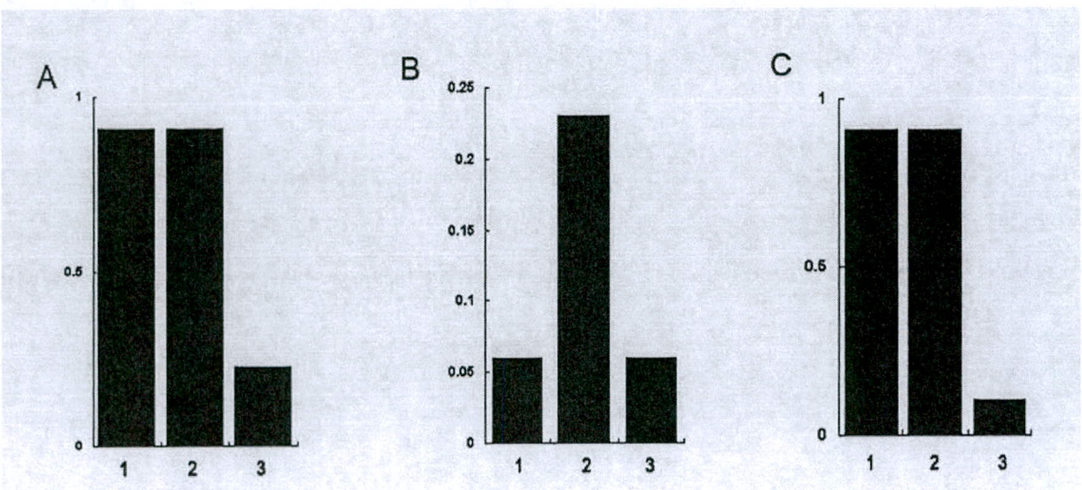

A
1
0.5
0
1 2 3
B
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
1 2 3
C
1
0.5
0
1 2 3

图 7

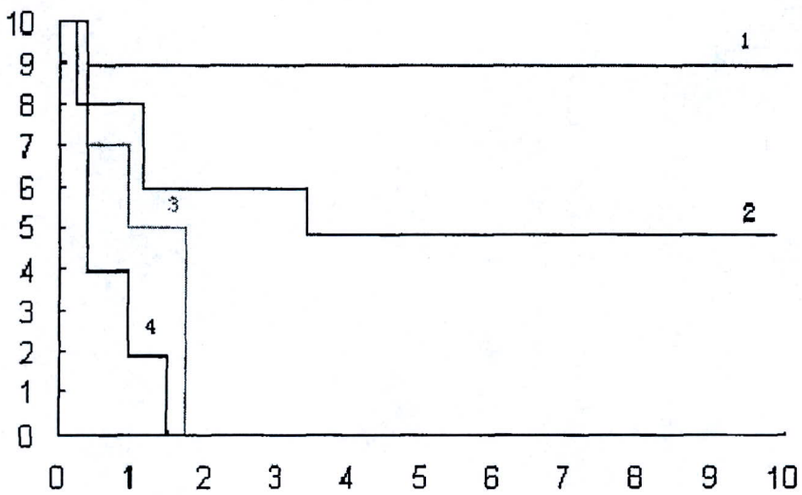


图 8

(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 101643501 B
(45)授权公告日 2012.06.20

(21)申请号 200910157564.5

(22)申请日 2009.07.14

(66)本国优先权数据
200810046485.2 2008.11.07 CN

(73)专利权人 畿晋庆三联(北京)生物技术有限公司
地址 100095 北京市海淀区苏家坨镇前沙涧村

(72)发明人 丘小庆

(74)专利代理机构 北京海虹嘉诚知识产权代理有限公司 11129
代理人 胡敬红

(51)Int.Cl.
C07K 14/245(2006.01)
C12N 15/31(2006.01)
A61K 38/16(2006.01)
A61P 31/04(2006.01)
C07K 19/00(2006.01)
C12N 15/62(2006.01)
C12N 15/63(2006.01)
C12P 21/02(2006.01)
C12R 1/19(2006.01)

(56)对比文件
CN 1766110 A,2006.05.03,
WO 2005089812 A2,2005.09.29,
CN 1532284 A,2004.09.29,
CN 1513877 A,2004.07.21,
CN 1341604 A,2002.03.27,
廖颖等. 抗耐药金黄色葡萄球菌工程多肽——一种人工构建的抗菌蛋白质分子机器.《四川大学学报(医学版)》.2003,第34卷(第4期),605-609.

审查员 贾涛

权利要求书 1 页 说明书 29 页 附图 6 页

(54)发明名称

一种新型抗生素及其核苷酸序列、制备方法与应用

(57)摘要

本发明涉及“一种新型抗生素及其核苷酸序列、制备方法与应用”,属于生物医药领域,包括大肠菌素变构多肽与葡萄球菌信息素肽链,能特异地杀灭该抗生素特异性结合的致病菌而不会伤害人体正常细胞,大肠菌素变构多肽与葡萄球菌信息素线性联接,产生了抗金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌以及绿脓杆菌的新型抗生素,抗菌效果是传统抗生素的千倍以上,而且不易产生耐药性,同时该新型抗生素克服了野生型大肠菌素使人体产生超敏反应的缺陷,使用起来更安全。

CN 101643501 B

1. 一种大肠菌素变构多肽，由野生型大肠菌素 Ia 肽链突变了氨基酸残基 G11A、H22R、A26G、V31L 和 H40K 而获得，其氨基酸序列如 Seq ID NO.36 所示。

2. 编码权利要求 1 所述的大肠菌素变构多肽的核苷酸序列。

3. 根据权利要求 2 所述的核苷酸序列，如 Seq ID NO.11 所示。

4. 权利要求 1 所述的大肠菌素变构多肽在制备抗菌药物中的应用。

5. 一种新型抗生素，由权利要求 1 所述的大肠菌素变构多肽和金黄色葡萄球菌信息素 AgrD I、AgrD II、AgrD III、AgrD IV 或表皮葡萄球菌信息素的肽链线性连接而成。

6. 根据权利要求 5 所述的新型抗生素，所述金黄色葡萄球菌信息素 AgrD I、AgrD II、AgrD III、AgrD IV 或表皮葡萄球菌信息素的氨基端连接在所述大肠菌素变构多肽的羧基端，连接肽的氨基酸序列分别如 Seq ID NO.13、Seq ID NO.15、Seq ID NO.17、Seq ID NO.19、Seq ID NO.21 所示。

7. 根据权利要求 5 所述的新型抗生素，所述金黄色葡萄球菌信息素 AgrD I 的羧基端连接在大肠菌素变构多肽的氨基端，其氨基酸序列如 Seq ID NO.23 所示。

8. 编码权利要求 5 至 7 任一所述的新型抗生素的核苷酸序列。

9. 根据权利要求 8 所述的核苷酸序列，如 Seq ID NO.12、Seq ID NO.14、Seq ID NO.16、Seq ID NO.18、Seq ID NO.20 或 Seq ID NO.22 所示。

10. 包含权利要求 8 或 9 所述的核苷酸序列的重组质粒。

11. 权利要求 5 至 7 任一所述新型抗生素在制备抗菌药物中的应用。

12. 一种新型抗生素的制备方法：是指将权利要求 10 所述的重组质粒转入表达系统中表达，分离纯化表达的多肽而获得新型抗生素。

13. 根据权利要求 12 所述的制备方法，所述表达系统指大肠杆菌工程菌菌株 E.coli BL-21。

一种新型抗生素及其核苷酸序列、制备方法与应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物医药领域，特别是涉及一种新型抗生素及其核苷酸序列、制备方法与应用。

背景技术

[0002] 自 1944 年青霉素等抗生素投入使用以来，使细菌，尤其是威胁生命的致病菌，如金葡球菌、肺炎链球菌、绿脓杆菌、结核杆菌等已对其产生了耐药性。据美国疾病控制中心 (CDC) 历年发表的有关报告预测，再过 10 年至 20 年，这些抗生素将可能完全失效。

[0003] 上述抗生素主要通过抑制细胞壁合成、抑制或干扰细菌的核酸和蛋白质代谢与合成途径来达到抗菌目的。然而这些抗菌方式容易诱导细菌发生突变而产生耐药性。因此人们一直在致力于开发新型的抗生素，模仿同种异株细菌之间互相杀伤的工作方式来开发新型抗生素是比较有前途的方向之一，自然界中有不少细菌毒素直接在细菌胞膜上形成离子通道来杀死细菌。其模式标本就是大肠杆菌分泌的一种细菌毒素 - 大肠菌素。其中大肠菌素 Ia 自 1952 年被 Jacob 发现之后，经过数代人的努力，1996 年终于揭示了大肠菌素 Ia 在人工脂质双分子膜上所形成离子通道开放和关闭时的跨膜立体结构 (Qiu et al, Major transmemebrane movementsoociated with colicin Ia channel gating. J. Gen. Physiology, 107 :313-328(1996))，为在分子水平上设计和制备新型的抗菌素奠定了理论基础。

[0004] 最近，人们发现细菌分泌信号传导多肽到体外，这些多肽能够自动寻找同种细菌胞膜上的相应受体，与受体结合后将信息传入细菌。这些传导多肽多由数个至十数个氨基酸组成，比如金黄色葡萄球菌的信息素 AgrD，就是一个 8 肽 (Ji et al, Cell density control ofstaphyliccocal virulence mediated by an octapeptide pheromone. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92 :12055-12059(1995))。

[0005] 如上所述，大肠菌素是一种理想的离子通道抗生素原型，但野生型大肠菌素只能作用于同种异株的大肠杆菌，因此必须改变它的靶向性，才能使大肠菌素转而攻击其它种的致病菌，且野生型大肠菌素的肽链中存在容易引起超敏反应的氨基酸残基；超敏反应指异常的、过高的免疫应答。如能利用致病菌特有的信息素作为诱导物来改变大肠菌素的靶向性，应该是一种理想的抗生素开发方向，目前本发明的发明人获得将大肠杆菌信息素基因与白色链珠球菌信息素基因连接起来表达抗真菌多肽的专利权，专利号为 ZL200510020219.9，但由于大肠菌素肽链中存在某些可能引起超敏反应的结构域，因此有必要改进。

发明内容

[0006] 本发明针对上述技术的缺陷与本领域仍然存在的空白，提供一种新型抗生素及其核苷酸序列、制备方法与应用。该抗生素的肽链含有大肠菌素，能特异地杀灭该抗生素特异性结合的致病菌而不会伤害人体正常细胞，克服了大肠菌素引起超敏反应的缺陷。

[0007] 一种大肠菌素变构多肽，由能形成离子通道结构域的野生型大肠菌素 E1、Ia、Ib、A、B、N 或其水性孔道结构域的肽链突变了氨基酸残基 G11A、H22R、A26G、V31L 和 H40K 而获得。

[0008] 所述大肠菌素变构多肽，由野生型大肠菌素 Ia 变构而来，具有 Seq ID NO.36 所示的氨基酸序列。编码所述的大肠菌素变构多肽的核苷酸序列。

[0009] 所述的大肠菌素变构多肽在制备抗菌药物中的应用。

[0010] 一种新型抗生素，由上述大肠菌素变构多肽和金黄色葡萄球菌信息素 AgrD I、AgrD II、AgrD III、AgrD IV 或表皮葡萄球菌信息素的肽链线性连接而成。

[0011] 所述大肠菌素变构多肽由野生型大肠菌素 Ia 变构而来，所述金黄色葡萄球菌信息素 AgrD I、AgrD II、AgrD III、AgrD IV 或表皮葡萄球菌信息素的氨基端连接在所述大肠菌素变构多肽的羧基端，连接肽分别具有如 Seq ID NO.13、Seq ID NO.15、Seq ID NO.17、Seq ID NO.19、Seq ID NO.21 所示的氨基酸序列。

[0012] 所述金黄色葡萄球菌信息素 AgrD I 的羧基端连接在大肠菌素变构多肽的氨基端，具有如 Seq ID NO.23 所示的氨基酸序列。

[0013] 编码上述新型抗生素的核苷酸序列。具有如 Seq ID NO.12、Seq ID NO.14、Seq ID NO.16、Seq ID NO.18、Seq ID NO.20 或 Seq ID NO.22 所示。

[0014] 包含上述核苷酸序列的重组质粒。

[0015] 上述新型抗生素在制备抗菌药物中的应用。

[0016] 一种新型抗生素的制备方法：是指将权利要求 9 所述的重组质粒转入表达系统中表达，分离纯化表达的多肽而获得新型抗生素。

[0017] 所述表达系统指大肠杆菌工程菌菌株 E.coli BL-21。

[0018] 本发明为预防临床使用中大肠菌素氨基端的某些肽链片段可能引起宿主的超敏反应，事先选择性的突变了这些肽链片段中的氨基酸残基：G11A、H22R、A26G、V31L 和 H40K，降低可能的致敏原性，从而获得了编码大肠菌素变构多肽的核苷酸序列和该变构多肽的氨基酸序列，变构多肽仍然保留了大肠菌素离子通道活性，能够将同种异株的大肠杆菌杀死。这些野生型大肠菌素可以选自能形成离子通道结构域的大肠菌素 E1、Ia、Ib、A、B、N 或其水性孔道结构域。

[0019] 本发明优选突变大肠菌素 Ia，将 Ia 的变构多肽 Ia′ 与其他致病菌信息素的肽链可操作地连接，如图 7 所示，连接肽可以改变 Ia′ 的靶向性，使该连接肽链攻击其能够识别的其他致病菌菌株，从而获得各种新型的抗生素，其机理是：可与靶致病菌胞膜受体结合的信息素作为诱导物诱导变构多肽到达靶致病菌胞膜附近，然后变构多肽在靶致病菌胞膜上形成致死性离子通道，使靶致病菌胞内容物泄漏而致靶致病菌死亡，从而达到杀菌的目的。

[0020] 本发明优选将 Ia′ 与金黄色葡萄球菌信息素 AgrD I、AgrD II、AgrD、AgrD IV 以及表皮葡萄球菌信息素的肽链线性连接，当金黄色葡萄球菌信息素 AgrD I、AgrD II、AgrD、AgrD IV 以及表皮葡萄球菌信息素的肽链连接在大肠菌素变构多肽 Ia′ 的羧基端，如图 1 ～ 5 所示，获得 5 种新型抗生素，由实施例 4、5、6、7 及表 1、表 2 的数据可以看出，本发明获得的这 5 种新型抗生素的杀菌效果；当葡萄球菌信息素连接在大肠菌素变构多肽 Ia′ 的第 1 号氨基酸位置即其实密码子编码的甲硫氨酸之后获得的 5 种连接肽链中，经实验发现仅 AgrD I 与 Ia′ 的连接肽链如图 6 所示，对绿脓杆菌有抗菌作用，其核苷酸序列如 Seq ID

NO 23 所示。

[0021] 所述编码本发明获得的新型抗生素的核苷酸序列。由于密码子的简并性，编码本发明获得的大肠菌素变构多肽、葡萄球菌新型抗生素、绿脓杆菌新型抗生素的氨基酸序列的核苷酸序列是可以调整的，即只要是编码本发明新型抗生素的核苷酸序列都属于本发明的保护范围。

[0022] 将编码本发明的新型抗生素的核苷酸序列载入骨架质粒中可获得能在宿主中表达本发明新型抗生素的重组质粒。本发明中，构建重组质粒的原始质粒为 Promega 公司的 pSELECT™-1 质粒，向其中装载大肠菌素变构多肽基因和 immunity 蛋白基因；按照 Strategene 公司药箱操作将编码葡萄球菌信息素的核苷酸序列经双链寡聚核苷酸点突变技术（QuickChang™Kit，Strategene 公司）插入到变构多肽基因的氨基端或羧基端得到本发明的重组质粒；本发明优选将 5 种葡萄球菌信息素基因序列插入到 Ia′ 基因的 626 号氨基酸（即羧基端）位置之后或第 1 号氨基酸位置即起始密码子之后而获得本发明如图 1 ～ 6 所示的六种能表达抗生素的重组质粒。

[0023] 本发明所指的新型抗生素的制备方法是指将上述重组质粒转染入大肠杆菌工程菌而获得可产生新型抗生素的转基因大肠杆菌，分离纯化转基因大肠杆菌表达的目的蛋白即可得到本发明的新型抗生素。本发明优选大肠杆菌工程菌菌株 BL-21。

[0024] 本发明获得的新型抗生素可在制备治疗或者预防大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、绿脓杆菌感染的药中应用。可以通过将本发明中获得的新型抗生素的多肽添加到药学上可接受的载体或者赋形剂或可选的其它成分而制成临床上适用的药物组合物。

[0025] 本发明的新型抗生素相较于现用抗生素的优点在于，其不会诱导细菌产生传统的耐药性而且克服了以大肠菌素为抗生素有效结构的重组抗生素会引起超敏反应的缺点，如实施例 10 的实验结果显示，与野生型大肠菌素采用野生型大肠菌素构建的重组抗生素相比，本发明的大肠菌素变构多肽及新型抗生素免疫小鼠的血清效价要比前者低两个数量级；由于细菌可通过突变产生 β－内酰胺酶、减少摄入、改变药物作用位点等方式改变其细胞壁结构、蛋白质和核酸代谢等来对传统抗生素产生耐药性，但是细菌却较难以通过突变来修复被本发明新型抗生素所造成的胞膜完整性的缺损，因为这种缺损往往在数分钟内即可导致细菌死亡，本发明的新型抗生素对于耐药性菌具有其它抗生素难以企及的杀灭作用；实验数据显示，本发明获得的新型抗生素不仅具有极好的杀菌效果，且 PMC-SA1，PMC-SA 两种抗生素对于实验鼠表现出良好的体内保护作用。

附图说明

[0026] 图 1. 重组质粒 pBHC-SA1 的结构；

[0027] 含有金黄色葡萄球菌信息素 AgrD I 的基因和大肠菌素变构多肽 Ia′ 基因。

[0028] 图 2. 重组质粒 pBHC-SA2 的结构；

[0029] 含有金黄色葡萄球菌信息素 AgrD II 的基因和大肠菌素变构多肽 Ia′ 的基因。

[0030] 图 3. 重组质粒 pBHC-SA3 的结构；

[0031] 含有金黄色葡萄球菌信息素 AgrD III 的基因和大肠菌素变构多肽 Ia′ 的基因。

[0032] 图 4. 重组质粒 pBHC-SA4 的结构；

[0033] 含有金黄色葡萄球菌信息素 AgrD IV 的基因和大肠菌素变构多肽 Ia′ 的基因。

[0034] 图 5 重组质粒 pBHC-SE 的结构；

[0035] 含有表皮葡萄球菌信息素的基因和大肠菌素变构多肽 Ia′ 的基因。

[0036] 图 6 重组质粒 pBHC-PA 的结构：

[0037] 含有金黄色葡萄球菌信息素 AgrD Ⅰ的基因和大肠菌素变构多肽 Ia'的基因，其中 AgrD Ⅰ基因连接在大肠菌素变构多肽 Ia' 的第 1 位氨基酸的密码子位置；

[0038] 图 7 新型抗生素的结构；

[0039] T，R，分别是大肠菌素变构多肽 Ia' 位于氨基端的两个信号识别结构域，其中 T 结构域的部分氨基酸残基已被突变；channel-forming，是大肠菌素变构多肽 Ia' 位于羧基端的能成离子通道的结构域，信息素连接在大肠菌素变构多肽 Ia' 的羧基端。

[0040] 图 8 为本发明新型抗生素 PMC-SA1 对青霉素敏感金葡菌的抑制实验结果。

[0041] 图中 Con：对照；PEN：青霉素；COL：野生型大肠菌素；BL21：无质粒的 BL-21 工程菌所产蛋白；FP：大肠菌素 Ia 羧基端连接其它 8 肽的重组蛋白；PMC：PMC-SA1。各实验组的药物用量均为 100ng/ml。

[0042] 图 9 为 PMC-SA1 对耐甲氧西林金葡菌 (ATCC BAA-42) 杀菌效果的透射电镜观察 (放大 25,000 倍)。

[0043] Con，对照组，菌形态正常；

[0044] Oxa，苯唑西林 500ug/ml 处理一个半小时，菌形态有变化，但菌体仍完整；

[0045] PMC：PMC-SA1 10ug/ml 处理半小时，菌破裂，内容物泄漏。

[0046] 图 10 为本发明新型抗生素 PMC-SA1 和 PMC-SE 对表皮葡萄球菌的抑制作用。

[0047] 表皮葡萄球菌的生长仅被 PMC-SA1 部分抑制，却被 PMC-SE 完全抑制。Con：对照组；PEN：青霉素；PMC：PMC-SA1；PMC-SE：PMC-SE 新型抗生素，药物浓度 2ug/ml。

[0048] 图 11 为本发明各种新型抗生素对耐甲氧西林金葡菌 (ATCC BAA-42) 的生长抑制作用。

[0049] 表明耐甲氧西林金葡菌的生长几乎不能被苯唑西林所抑制，PMC-PA 的抑菌效果最差，抑制效果最好的是 PMC-SA1，其次是 PMC-SE 和 PMC-SA4，PMC-SA2 和 PMC-SA3 再次之；

[0050] 图中 Con：对照；Oxa：苯唑西林；SA1：PMC-SA1；SA2：PMC-SA2；SA3：PMC-SA3；SA4：PMC-SA4；SE：PMC-SE 和 PA：PMC-PA，药物浓度 5ug/ml；

[0051] 图 12 为本发明新型抗生素 PMC-SA1 和 PMC-PA 对绿脓杆菌的抑制作用。

[0052] 绿脓杆菌的生长仅被 PMC-PA 完全抑制。

[0053] Con：对照组；COL：野生型大肠菌素；PMC1：PMC-SA1 新型抗生素；PMC2：PMC-PA，药物浓度 5ug/ml。

[0054] 图 13 为新型抗生素的多重耐药绿脓杆菌感染动物体内保护试验结果之小鼠生存曲线。

[0055] 1) 对照组，2) 哌拉西林 50mg/kg 组，3) 阿米卡星 15mg/kg 组，4) 头孢他啶 50mg/kg 组，5) 左氧氟沙星 5mg/kg 组，6)PMC-PA5mg/kg 组。

具体实施方式

[0056] 结合附图，通过对本发明较佳实施例的描述具体说明本发明。

[0057] 【实施例 1】表达新型抗生素的质粒的构建和新型抗生素制备

[0058] 原始质粒为装载了大肠菌素变构多肽 Ia' 和 immunity 蛋白基因的 pSELECT™-1 质粒 (8.3kb)(购于 Promega 公司)。经双链寡聚核苷酸点突变技术 (QuickChange™ Kit, Strategene 公司)将编码葡萄球菌信息素基因序列如 :SEQ ID NO 1、3、5、7、9 所示,分别插入到大肠菌素变构多肽 Ia′ 基因的 626 号氨基酸位置之后,获得制备新型抗生素的一系列重组质粒,pBHC-SA1、pBHC-SA2、pBHC-SA3pBHC-SA4、pBHC-SE,如图 1 ～图 5 所示,以及金黄色葡萄球菌信息素 AgrDI 的基因序列如 SEQ ID NO 1 所示连接在变构多肽 Ia′ 基因的第 1 号氨基酸位置前而获得重组质粒 pBHC-PA 如图 6 所示。重组质粒转染入 E.coli BL-21 工程菌制备新型抗生素。

[0059] 突变程序按 Strategene QuickChange SiteDirected Mutagenesis Kit(catalog#200518) 药箱手册进行 :

[0060] 1. 准备点突变反应物 :

[0061] 5ul 10Xbuffer

[0062] 2ul(10ng) 装载了大肠菌素变构多肽和 immunity 蛋白基因的原始质粒 pSELECT™-1。

[0063] 1.25ul(125ng) 设计的 5'-3' 寡聚核苷酸引物 (见 SEQ ID NO24 ～ 34 偶数序列)

[0064] 1.25ul(125ng) 设计的 3'-5' 寡聚核苷酸引物 (见 SEQ ID NO25 ～ 35 奇数序列)

[0065] 1ul dNTP

[0066] 双蒸水 50ul

[0067] 1ul pfu

[0068] (除质粒、引物和双蒸水外,均为药箱所备试剂)

[0069] 2. 进行 PCR 扩增,扩增条件 :变性 95℃,35 秒,退火 53℃,70 秒,延伸 68℃,17 分,共 20 个循环 ;

[0070] 3. 加入 Dpn 1 内切酶 1ul 消化母体 DNA 链后 (37℃,1 小时),取 1ul 反应物与 XL1-Blue 感受态细胞 50ul 冰孵 30 分钟,热冲击 42℃,45 秒,再置入冰中 2 分钟 ;

[0071] 4. 加入 NZY 培基 0.5ml,220rpm,37℃摇菌 1 小时,取 50-100ul 反应物铺板 (LB 培基加 1%琼脂,加 50ug/ml 氨苄青霉素,37℃过夜) ;

[0072] 5.18 小时后挑菌,提取质粒后测序确定突变成功 ;

[0073] 6. 将突变质粒 100ng 与制备的 BL-21 工程菌感受态细胞 40ul 冰孵 5 分钟,热冲击 42℃,30 秒,再置入冰中 2 分钟,加入 SOC 培基 160ul,220rpm,37℃摇菌 1 小时后铺板 (LB 培基加 1%琼脂,加 50ug/ml 氨苄青霉素,37℃过夜),挑取单克隆菌落大量增菌 ;

[0074] 7. 大量增菌,8-10 升 FB 培基,250rpm,37 ℃,3-4 小时 ;加入 IPTG ,250rpm,28℃再生长 4 小时 ;4℃,6000g,20 分钟离心沉淀菌体,取 4℃,50mM 硼酸缓冲液 (pH9.0,2mMEDTA)80-100ml 悬浮菌体,加入 PMSF 50ug 后超声破碎菌体 (4℃,400W,1 分钟,重复 4-5 次,间歇 2-3 分钟确保菌液温度),高速离心沉淀破碎的菌体 (4℃,75,000g,90 分钟),取上清加入硫酸链霉素 500 万单位沉淀 DNA(4℃搅拌 1 小时),10000g,4℃,10 分钟离心沉淀后,取上清装入分子量 15,000 透析袋于 4℃,50mM 硼酸缓冲液 10 升透析过夜后,再次 10,000g,4℃,10 分钟离心沉淀,取上清上样于 CM 离子交换柱,充分冲洗后,0.3M NaCl+50mM 硼酸缓冲液洗脱即可得到所制备的新型抗生素。对应于以上 6 种重组质粒,可分别获得 PMC-SA1、PMC-SA2、PMC-SA3、PMC-SA4、PMC-SE 以及 PMC-PA 六种新型抗生素。

[0075] 制备上述6种突变质粒的信息素基因所设计的寡聚核苷酸序列分别如下：

[0076] pBHC-SA1

[0077] 5’-3’(SEQ ID NO.24)

[0078] gcg aat aag ttc tgg ggt att TAT TCC ACC TGT GAT TTT ATA ATG taa ata aaa tat aag aca ggc

[0079] 3’-5’(SEQ ID NO.25)

[0080] gcc tgt ctt ata ttt tat tta CAT TAT AAA ATC ACA GGT GGA ATA aat acc cca gaa ctt att cgc

[0081] pBHC-SA2

[0082] 5’-3’(SEQ ID NO.26)

[0083] gcg aat aag ttc tgg ggt att GGA GTT AAC GCA TGT TCT TCC CTG TTT taa ata aaa tat aagaca ggc

[0084] 3’-5’(SEQ ID NO.27)

[0085] gcc tgt ctt ata ttt tat tta AAA CAG GGA AGA ACA TGC GTT AAC TCC aat acc cca gaa ctt attcgc

[0086] pBHC-SA3

[0087] 5’-3’(SEQ ID NO.28)

[0088] gcg aat aag ttc tgg ggt att TAT ATA AAC TGT GAT TTT CTT CTG taa ata aaa tat aag aca ggc

[0089] 3’-5’(SEQ ID NO.29)

[0090] gcc tgt ctt ata ttt tat tta CAG AAG AAA ATC ACA GTT TAT ATA aat acc cca gaa ctt att cgc

[0091] pBHC-SA4

[0092] 5’-3’(SEQ ID NO.30)

[0093] gcg aat aag ttc tgg ggt att TAT TCC ACC TGT TAC TTT ATA ATG taa ata aaa tat aag aca ggc

[0094] 3’-5’(SEQ ID NO.31)

[0095] gcc tgt ctt ata ttt tat tta CAT TAT AAA GTA ACA GGT GGA ATA aat acc cca gaa ctt att cgc

[0096] pBHC-PA

[0097] 5’-3’(SEQ ID NO.32)

[0098] gga tga agg aga tac cga atg TAT TCC ACC TGT GAT TTT ATA ATG tct gac cct gta cgt att aca

[0099] 3’-5’(SEQ ID NO.33)

[0100] gtg aat acg tac agg gtc aga CAT TAT AAA ATC ACA GGT GGA ATA cat tcg gta tct cct tca tcc

[0101] pBHC-SE

[0102] 5’-3’(SEQ ID NO.34)

[0103] gcg aat aag ttc tgg ggt att GAT TCC GTT TGT GCA TCC TAT TTT taa ata aaa

tat aag aca ggc

[0104] 3'-5'(SEQ IDNO.35)

[0105] gcc tgt ctt ata ttt tat tta AAA ATA GGA TGC ACA AAC GGA ATC aat acc cca gaa ctt att cgc

[0106] 【实施例 2】新型抗生素对青霉素敏感金葡菌的抑制作用

[0107] 细菌为美国标准菌株,ATCC 25923 青霉素敏感金葡菌,菌液 2 微升(10^5CFU/ml)加入 1%胰蛋白胨,1% NaCl,0.5%酵母,0.5%葡萄糖,0.1% K_2HPO_4 的培养液 10 毫升中,共准备 6 组,第一组加入 0.3M NaCl+50mM 硼酸缓冲液(即新型抗生素、野生型大肠菌素 Ia 和无质粒的 BL-21 工程菌所产蛋白的空白保存液,量与实验组中加入的新型抗生素液体量相同)作为对照,第二组加入 100ng/ml 青霉素 G 钠,第三组加入 100ng/ml 野生型大肠菌素 Ia,第四组加入 100ng/ml 无质粒的 BL-21 工程菌所产蛋白,第五组加入 100ng/ml 大肠菌素 Ia 羧基端连接其它 8 肽的重组蛋白,第六组加入 100ng/ml PMC-SA1 新型抗生素。

[0108] 上述各组液体分别置于 100 毫升三角烧瓶中,200rpm,37℃生长,每小时采样 100 微升加入 96 孔酶表板中经分光光度计(A 595nm)比色测试细菌生长浊度,画出细菌生长曲线来比较新型抗生素的抑菌效力,结果如图 8 所示,显示青霉素敏感金葡菌只能被青霉素和 PMC-SA1 所抑制。

[0109] 【实施例 3】新型抗生素 PMC-SA1 对耐甲氧西林金葡菌(ATCC BAA-42)杀菌效果的透射电镜观察(1%磷钨酸染色,放大 25,000 倍)。

[0110] 培养液:1%胰蛋白胨,1% NaCl,0.5%酵母,0.5%葡萄糖,0.1% K_2HPO_4。

[0111] Con:对照组,菌加入前述培养液中和适量 0.3M NaCl+50mM 硼酸缓冲液中 200rpm,37℃生长 2 小时后,菌形态仍然正常;

[0112] Oxa:菌加入前述培养液和苯唑西林 500ug/ml 中 200rpm,37℃生长 1.5 小时后,菌的颜色和形态有变化,但菌体仍完整;

[0113] PMC:菌加入前述培养液中和 PMC-SA1 10ug/ml 处理半小时后,菌破裂,内容物泄漏。

[0114] 如图 9 所示,新型抗生素与青霉素的杀菌机制完全不同,500ug/ml 苯唑西林可损伤耐甲氧西林金葡菌,而 10ug/ml PMC-SA1 可有效杀伤耐甲氧西林金葡菌,苯唑西林分子(分子量 450 左右)和 PMC-SA1 分子(分子量 70,000 左右)的分子量相差 160 倍,本实施例中苯唑西林和 PMC-SA1 的使用浓度相差 50 倍,因此 PMC-SA1 在本实施例中表现出来的抗菌效力比苯唑西林强八千倍左右。

[0115] 【实施例 4】新型抗生素 PMC-SA1 的体外抗菌活性

[0116] 一、实验材料

[0117] (1)药物

[0118] ● PMC-SA1:规格:1.5mg/ml

[0119] ●注射用头孢唑林钠:规格:0.5g/瓶,华北制药股份有限公司生产。

[0120] ●注射用青霉素钠:规格:80 万单位/瓶,华北制药股份有限公司生产。

[0121] ●注射用氨苄西林钠:规格:1g/瓶,华北制药股份有限公司生产。

[0122] ●注射用苯唑西林钠:规格:0.5g/瓶,华北制药股份有限生产。

[0123] ●万古霉素:规格:2.5mg/ml,

[0124] ●以上样品用无菌水溶解稀释，药物终浓度为 128mg/L、64mg/L、32mg/L、16mg/L、8mg/L、4mg/L、2mg/L、1mg/L、0.5mg/L、0.25mg/L、0.125mg/L、0.06mg/L、0.03mg/L、0.015mg/L。

[0125] (2) 细菌

[0126] 临床分离菌株：所有菌种在收集分离的单位（华西医科大学检验科细菌室）均经鉴定。

[0127] 金黄色葡萄菌 28 株 (MRSA 菌株 10 株，MSSA 菌株 18 株)、表皮葡萄球菌 10 株 (MRSA 菌株 5 株，MSSE 菌株 5 株)、肠球菌 5 株、大肠杆菌 10 株、鲍曼不动杆菌 10 株，共 63 株。

[0128] 标准质控菌株：青霉素敏感金黄色葡萄球菌 ATCC 25923、耐青霉素金黄色葡萄球菌 ATCC29213，耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC BAA-42，耐万古霉素肠球菌 ATCC 700802。

[0129] (3) 培养基

[0130] ● MH 肉汤培养基：称取 25g 加 100ml 蒸馏水，加热溶解，分装，高压灭菌，116℃，20 分钟。MH 固体培养基：称取 36g，加 1000m 蒸馏水，高压灭菌，116℃，20 分钟，用于革兰氏阳性、阴性需氧菌的药敏试验。

[0131] ●肠球菌用血培养基，即在 MH 培养基中加 5-10％脱纤维兔血配置而成，5％ CO_2 中 37℃培养 24 小时。

[0132] 二、试验方法

[0133] 1、最低抑菌浓度 MIC 的测定

[0134] 采用琼脂二倍稀释法测定 PMC-SA1 的最低抑菌浓度 (MIC)。用多点接种仪 (Deneley A400) 将细菌接种于含不同药物浓度的琼脂平皿表面，每点含菌量为 10^5CFU/ml，37℃孵育 18-24 小时观察结果，以无细菌生长平皿培养基中所含药物的最低浓度为药物对该菌的最低抑菌浓度 (MIC 值)。

[0135] 三、结果

[0136] 实验结果见表 1

[0137] 表 1PMC-SA 的体外抗菌活性比较

[0138]

菌株（株数）	药物	MIC_{50}（mg/L）	MIC_{90}(mg/L)	MIC 范围（mg/L）
金黄色葡萄球菌 MRSA 菌株	PMC-SA1	8—16	>16	<0.25-64
	头孢唑林	>128	>128	1-128
	青霉素	128	>128	1-128
	氨苄西林	16	32	0.06-64
	苯唑西林	>128	>128	0.5～128
	万古霉素	0.25	1	0.004～2
金黄色葡萄球菌 MSSA 菌株	PMC-SA1	0.5	16	0.06～>32
	头孢唑林	0.125	0.25	<0.015～0.5
	青霉素	8	64	0.125～>128
	氨苄西林	0.25	1	<0.015～0.025
	苯唑西林	0.125	0.125	<0.015～0.25
	万古霉素	0.5	1	0.03～1
表皮葡萄球菌 MRSE 菌株	PMC-SA1	>64	>64	1～>128
	头孢唑林	32	>128	0.06～>128
	青霉素	>128	>128	8～>128
	氨苄西林	16	64	0.06～64
	苯唑西林	64	>128	0.5～>128
	万古霉素	0.5	1	0.25～2
表皮葡萄球菌 MSSE 菌株	PMC-SA1	1	32	0.25～64
	头孢唑林	0.03	0.5	<0.125～0.5
	青霉素	4	32	0.125～128
	氨苄西林	0.03	0.25	<0.125～0.25
	苯唑西林	0.03	0.125	<0.125～0.25
	万古霉素	0.5	0.5	0.06～0.5

[0139]

肠球菌	PMC-SA1	>64	>64	8～>128
	头孢唑林	32	>128	32～>128
	青霉素	32	64	32～>128
	氨苄西林	0.5	16	0.25～16
	苯唑西林	16	>128	8～>128
	万古霉素	1	2	0.5～50
大肠杆菌	PMC-SA1	16	>32	4～>16
	头孢唑林	>128	>128	128～>128
	青霉素	>128	>128	>128
	氨苄西林	>128	>128	16～>128
	苯唑西林	>128	>128	>128
	万古霉素	>128	>128	>128
鲍曼不动杆菌	PMC-SA1	32	>64	0.5～>64
	头孢唑林	>128	>128	>128
	青霉素	>128	>128	>128
	氨苄西林	>128	>128	16～>128
	苯唑西林	>128	>128	>128
	万古霉素	>128	>128	128～>128

[0140] 【实施例 5】新型抗生素的对金葡菌、肠球菌和大肠杆菌感染动物体内保护试验

[0141] 一．实验材料

[0142] (1)．药物

[0143] 使用药物同【实施例 4】。

[0144] 以上样品用无菌水溶解稀释，药物注射浓度为 10mg/kg、5mg/kg、2.5mg/kg。

[0145] (2) 细菌

[0146] 耐甲氧西林金葡菌 ATCC BAA-42、耐青霉素金葡菌 ATCC 29213、耐万古霉素肠球菌 ATCC700802、大肠杆菌（临床分离氨苄青霉素敏感株，32033）。

[0147] 二．实验方法

[0148] 昆明小鼠 340 只，雌雄各半，体重 15 ～ 20 克，随机分组为腹腔分别注射金黄色葡萄球菌 ATCC BAA-42、ATCC29213、肠球菌 ATCC 700802 和大肠杆菌（临床分离氨苄青霉素敏感株，32033）四个大组，其中 PMC-SA1、青霉素、氨苄西林、头孢唑林和万古霉素实验组分别为每组小鼠 5 只，对照组每组小鼠 10 只。腹腔注射致死剂量的细菌后，各药物试验组小鼠分别自静脉注射 10mg、5mg、2.5mg/kg 剂量的药物一次，每 24 小时观察结果，连续观察 7-14

天，以小鼠死亡为阳性结果。

[0149] 三．结果

[0150] 5mg、3mg 和 1mg 药物剂量组结果显示，PMC-SA1 组小鼠存活率在 3 个剂量组中与万古霉素组小鼠存活率始终保持了恒定的差距，因此在体内试验中 PMC-SA1 对抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染的治疗效果远优于万古霉素。这可能是 PMC-SA1 既杀菌又抑制细菌毒素分泌的双重效果所致。因而该药在临床应用时可能具有其他抗生素无法比拟的治疗效果，其他各抗生素小鼠死亡率＞ 80%，已不具备可比性；对照组于 48 小时内全部死亡。

[0151] 试验结果见表 2

[0152] 表 2PMC-SA1 体内保护试验结果（静脉给药）

[0153]

细菌（菌号）感染菌量 (cfu/ml)	药物	MIC (μg/ml)	ED_{50} mg/kg	95% 可信限 (mg/kg)
肠球菌 ATCC 700802 ($7.0X10^6$)	PMC-SA1	16	18.2	8.90-19.62
	头孢唑啉	>128	>10	>10
	青霉素	4	4.16	3.27-4.86
	氨苄西林	2.5	3.00	2.87-6.77
	万古霉素	>16	3.66	3.54-5. 41
金葡球菌 MRSA BAA-42 ($6.5X10^5$)	PMC-SA1	0.5	4.12	3. 82-6.61
	头孢唑啉	6	9.04	6.84-12.16
	青霉素	8	14.71	12.29-21.52
	氨苄西林	16	25.41	19.43-42.70
	万古霉素	0.5	3.54	2.75-6.16
金葡球菌 ATCC 29213 ($4.6X10^5$)	PMC-SA1	0.5	10.35	8.74-15.28
	头孢唑啉	7	29. 11	18.42-59.64
	青霉素	16	10.75	8.12-17.79
	氨苄西林	1.5	14.05	9.00-46.51
	万古霉素	0.5	2.42	2.71-3.79
大肠埃希氏菌 02-1-65	PMC-SA1	1	3.78	3.48-6.08
	头孢唑啉	>128	>30	>35

[0154]

($3.8X10^5$)	青霉素	>128	>34.5	>36
	氨苄西林	>128	>32	>40.11
	万古霉素	128	>40.12	>44.31

[0155] 由实施例 4 和 5 的表 1 和表 2 结果可以看出：

[0156] 1. 金葡球菌 (MRSA) 体外抗菌活性比较：苯唑西林 MIC90 测定值比 PMC-SA1 测定值大 8 倍。PMC-SA1 分子量 (70,0000) 是万古霉素分子量 (1,400) 的 49 倍，苯唑西林分子量 (450) 的 155 倍。按单位体积内相同药物分子数标定，则 PMC-SA1 对金葡球菌 (MRSA) 体外抗菌活性相当于万古霉素对 MRSA 体外抗菌活性的 3 倍，相当于苯唑西林对 MRSA 体外抗菌活性的 1,240 倍。

[0157] 2. PMC-SA1 感染小鼠体内保护实验中，最小剂药量 (2.5mg/kg) 条件下 PMC-SA1 组的死亡率最低 (40%)，其他各组死亡率分别为青霉素组 60%，氨苄西林组 100%，万古霉素 60%，对照组 100%。该结果显示 PMC-SA1 的保护率最高 (60%)；青霉素和万古霉素的保护率次之 (40%)。

[0158] 【实施例 6】新型抗生素对表皮葡萄球菌生长的影响

[0159] 细菌为购自中国菌种保存中心（国家医药管理局生物制品检定所，北京天坛）的表皮葡萄球菌标准菌株，编号 26069，菌液 3 微升 (10^6CFU/ml 级菌量）加入 1% 蛋白胨，1% NaCl，0.5% 酵母。0.5% 葡萄糖，0.1% K_2HPO_4 的培养液 10ml 中，共准备 4 组，第一组加入 0.3MNaCl+50mM 硼酸缓冲液（量与实验组中抗菌多肽液体量相同）作为对照，第二组加入 2μg/ml 青霉素 G 钠，余各实验组加入 2μg/ml PMC-SA1 和 PMC-SE（保存液为 0.3M NaCl+50mM 硼酸缓冲液）。

[0160] 上述各组液体置于 100ml 三角烧瓶中，200rpm，37℃生长，每小时采样 100μl 加入 96 孔酶标板中经分光光度计 (A 595nm) 比色测定细菌生长浊度，画出细菌生长曲线来比较抗菌多肽的抑菌效力，结果见图 10，由图中可见，表皮葡萄球菌的生长可被抗金葡多肽部分抑制，可被抗表葡多肽有效的抑制。

[0161] 【实施例 7】几种新型抗生素抑菌效果的比较

[0162] 以下试验比较了本发明制备的 6 种抗菌多肽的抑菌活性，细菌为美国标准菌株，耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC BAA-42，菌液 5 微升 (10^6CFU/ml 级菌量）加入 1% 蛋白胨，1% NaCl，0.5% 酵母。0.5% 葡萄糖，1% K_2HPO_4 的培养液 10ml 中，共准备 8 组，第一组加入 0.3MnaCl+50mM 硼酸缓冲液（量与实验组中抗菌多肽液体量相同）作为对照，第二组加入 5μg/ml 青霉素 G 钠，余各组加入 PMC-SA1、PMC-SA2、PMC-SA3、PMC-SA4、PMC-SE 和 PMC-PA（保存液为 0.3M NaCl+50mM 硼酸缓冲液）。

[0163] 上述各组液体置于 100ml 三角烧瓶中，200rpm，37℃生长，每小时采样 100μl 加入 96 孔酶标板中经分光光度计 (A 595nm) 比色测试细菌生长浊度，画出细菌生长曲线来比较抗菌多肽的抑菌能力，结果见图 11。

[0164] 结果显示，耐甲氧西林金葡菌的生长几乎不能被苯唑西林抑制，PMC-PA 的抑菌效果最差，抑制效果最好的是 PMC-SA1，其次是 PMC-SE 和 PMC-SA4，PMC-SA2 和 PMC-SA3 再次之。

[0165] 【实施例 8】新型抗生素对绿脓杆菌生长的影响

[0166] 细菌为购自中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心的绿脓杆菌标准菌株 (ATCC27853)，菌液 5 微升 (10^6CFU/ml 级菌量）加入 MH 培养液 10ml 中，共准备 7 组，第一组加入 0.3MNaCl+50mM 硼酸缓冲液（量与实验组中抗菌多肽液体量相同）作为对照，第二组加入 5μg/ml 野生型大肠菌素 Ia，第三组加入 5μg/ml PMC-SA1，第四组加入 5μg/mlPMC-PA。

[0167] 上述各组液体置于 100ml 三角烧瓶中，200rpm，37℃生长，每小时采样 100μl 加入 96 孔酶标板中经分光光度计 (A 595nm) 比色测定细菌生长浊度，画出细菌生长曲线来比较抗菌多肽的抑菌效力，结果见图 12。

[0168] 由图中可见，实验中绿脓杆菌的生长仅被 PMC-PA 完全抑制，而野生型大肠菌素 Ia 和 PMC-SA1 均不能有效抑制绿脓杆菌的生长。

[0169] 【实施例 9】新型抗生素的多重耐药绿脓杆菌感染动物体内保护试验

[0170] 一．实验材料

[0171] (1) 药物

[0172] PMC-PA、哌拉西林、阿米卡星、头孢他啶、左氧氟沙星。

[0173] (2) 细菌

[0174] 多重耐药绿脓杆菌（临床分离株 13280，华西医科大学检验科细菌室）。

[0175] 二．实验方法

[0176] 昆明小鼠 60 只，雌雄各半，体重 15 ～ 20 克，随机分组，腹腔注射多重耐药绿脓杆菌，其中 PMC-PA、哌拉西林、阿米卡星、头孢他啶和左氧氟沙星实验组分别为每组小鼠 10 只，对照组每组小鼠 10 只。腹腔注射致死剂量的细菌后，各药物试验组小鼠分别自静脉注射上述药物一次，每 24 小时观察结果，连续 10 天，以小鼠死亡为阳性结果。

[0177] 三．结果

[0178] 如图 13 所示小鼠生存曲线，腹腔注射致死剂量多重耐药绿脓杆菌后，(1)，对照组在 2 天内全部死亡，(2)，哌拉西林 50mg/kg 组在 3 天内全部死亡，(3)，阿米卡星 15mg/kg 组在 4 天内全部死亡，(4)，头孢他啶 50mg/kg 组的 10 天存活率为 20%，(5)，左氧氟沙星 5mg/kg 组的 10 天存活率为 40%，(6)PMC-PA 5mg/kg 组的 10 天存活率为 100%。

[0179] 结果显示，对多重耐药绿脓杆菌致死性感染，本发明的新型抗生素 PMC-PA 表现出了所试现用抗生素无法比拟的抗菌活性。

[0180] 【实施例 10】大肠菌素变构多肽的免疫效果观察

[0181] 取大肠菌素 Ia 变构多肽、实施例 1 中 PMC-SA1 及野生型大肠菌素 Ia、发明人前期发明的抗金葡菌多肽 (ZL01128836.1) 各一份免疫小鼠：上述各蛋白与佐剂混合后，基础量和追加量为腹腔注射每只 50μg(0.5ml)1 次。间隔两周，免疫 5 针。ELISA 间接法检测小鼠血清效价（肖毅等，抗金葡菌多肽单克隆抗体制备及初步测定，陕西医学杂志，35(1)：6-7，32(2006)）。野生型大肠菌素 Ia 以及抗金葡菌多肽 (ZL01128836.1) 所免疫小鼠血清效价为 10^{-4} 至 10^{-5}，而大肠菌素 Ia 变构多肽以及本发明 PMC-SA1 所免疫小鼠血清效价为 10^{-2} 至 10^{-3}。

[0182] 因此大肠菌素 Ia 变构多肽以及本发明的新型抗生素 PMC-SA1 造成宿主致敏反应的可能性要比野生型大肠菌素 Ia 以及抗金葡菌多肽造成宿主致敏反应的可能性低一至两

个数量级。

[0183] 以上对本发明的详细描述并不限制本发明，本领域技术人员可以根据发明作出各种改变和变形，只要不脱离本发明的精神，均应属于本发明所附权利要求的范围。

[0184] 附录：

[0185] 序列表：

[0186] SEQ ID NO.1

[0187] 编码金黄色葡萄球菌信息素 AgrDI 的基因片段

[0188] tattccacct gtgattttat aatg 24

[0189] SEQ ID NO.2

[0190] 金黄色葡萄球菌信息素 AgrDI 的人工序列

[0191] Tyr Ser Thr Cys Asp Phe Ile Met

[0192] SEQ ID NO.3

[0193] <213>编码金黄色葡萄球菌信息素 AgrDII 的基因片段

[0194] ggagttaacg catgttcttc cctgttt 27

[0195] SEQ ID NO.4

[0196] 金黄色葡萄球菌信息素 AgrDII 的人工序列

[0197] Gly Val Asn Ala Cys Ser Ser Leu Phe

[0198] SEQ ID NO.5

[0199] 编码金黄色葡萄球菌信息素 AgrD III 的基因片段

[0200] tatataaact gtgattttct tctg 24

[0201] SEQ ID NO.6

[0202] 金黄色葡萄球菌信息素 AgrD III 的人工序列

[0203] Tyr Ile Asn Cys Asp Phe Leu Leu

[0204] SEQ ID NO.7

[0205] 编码金黄色葡萄球菌信息素 AgrDIV 的基因片段

[0206] tattccacct gttactttat aatg 24

[0207] SEQ ID NO.8

[0208] 金黄色葡萄球菌信息素 AgrDIV 的人工序列

[0209] Tyr Ser Thr Cys Tyr Phe Ile Met

[0210] SEQ ID NO 9

[0211] 编码表皮葡萄球菌信息素的基因片段

[0212] gattccgttt gtgcatccta tttt 24

[0213] SEQ ID NO 10

[0214] 表皮葡萄球菌信息素的人工序列

[0215] Asp Ser Val Cys Ala Ser Tyr Phe

[0216] SEQ ID NO 11

[0217] 大肠菌素 Ia 变构多肽基因序列

[0218] atgtctgacc ctgtacgtat tacaaatccc gcagcagaat cgctggggta tgattcagat 60

[0219] ggcaaagaaa ttatgggtgt tgatatttat ctcaaccctc cacgtgtcga tgtctttaaa 120

[0220] ggtaccccgc ctgcatggag ttccttcggg aacaaaacca tctggggcgg aaacgagtgg 180

[0221] gttgatgatt ccccaacccg aagtgatatc gaaaaaaggg acaaggaaat cacagcgtac 240

[0222] aaaaacacgc tcagcgcgca gcagaaagag aatgagaata agcgtactga agccggaaaa 300

[0223] cgcctctctg cggcgattgc tgcaagggaa aaagatgaaa acacactgaa aacactccgt 360

[0224] gccggaaacg cagatgccgc tgatattaca cgacaggagt tcagactcct gcaggcagag 420

[0225] ctgagagaat acggattccg tactgaaatc gccggatatg acgccctccg gctgcataca 480

[0226] gagagccgga tgctgtttgc tgatgctgat tctcttcgta tatctccccg ggaggccagg 540

[0227] tcgttaatcg aacaggctga aaaacggcag aaggatgcgc agaacgcaga caagaaggcc 600

[0228] gctgatatgc ttgctgaata cgagcgcaga aaaggtattc tggacacccg gttgtcagag 660

[0229] ctggaaaaaa atggcggggc agcccttgcc gttcttgatg cacaacaggc ccgtctgctc 720

[0230] gggcagcaga cacggaatga cagggccatt tcagaggccc ggaataaact cagttcagtg 780

[0231] acggaatcgc ttaacacggc ccgtaatgca ttaaccagag ctgaacaaca gctgacgcaa 840

[0232] cagaaaaaca cgcctgacgg caaaacgata gtttcccctg aaaaattccc ggggcgttca 900

[0233] tcaacaaatc attctattgt tgtgagcggt gatccgagat ttgccggtac gataaaaatc 960

[0234] acaaccagcg cagtcatcga taaccgtgca aacctgaatt atcttctgag ccattccggt 1020

[0235] ctggactata aacgcaatat tctgaatgac cggaatccgg tggtgacaga ggatgtggaa 1080

[0236] ggtgacaaga aaatttataa tgctgaagtt gctgaatggg ataagttacg gcaaagattg 1140

[0237] cttgatgcca gaaataaaat cacctctgct gaatctgcgg taaattcggc gagaaataac 1200

[0238] ctcagtgcca gaacaaatga gcaaaagcat gcaaatgacg ctcttaatgc cctgttgaag 1260

[0239] gaaaaagaga atatacgtaa ccagctttcc ggcatcaatc agaagatagc ggaagagaaa 1320

[0240] agaaaacagg atgaactgaa ggcaacgaaa gacgcaatta atttcacaac agagttcctg 1380

[0241] aaatcagttt cagaaaaata tggtgcaaaa gctgagcagt tagccagaga gatggccggg 1440

[0242] caggctaaag ggaagaaaat acgtaatgtt gaagaggcat taaaaacgta tgaaaagtac 1500

[0243] cgggctgaca ttaacaaaaa aattaatgca aaagatcgtg cagcgattgc cgcagccctt 1560

[0244] gagtctgtga agctgtctga tatatcgtct aatctgaaca gattcagtcg gggactggga 1620

[0245] tatgcaggaa aatttacaag tcttgctgac tggatcactg agtttggtaa ggctgtccgg 1680

[0246] acagagaact ggcgtcctct ttttgttaaa acagaaacca tcatagcagg caatgccgca 1740

[0247] acggctcttg tggcactggt cttcagtatt cttaccggaa gcgctttagg cattatcggg 1800

[0248] tatggtttac tgatggctgt caccggtgcg ctgattgatg aatcgcttgt ggaaaaagcg 1860

[0249] aataagttct ggggtatt 1878

[0250] SEQ ID NO 12

[0251] 编码新型抗生素 PMC-SA1 的基因序列

[0252] atgtctgacc ctgtacgtat tacaaatccc gcagcagaat cgctggggta tgattcagat 60

[0253] ggcaaagaaa ttatgggtgt tgatatttat ctcaaccctc cacgtgtcga tgtctttaaa 120

[0254] ggtaccccgc ctgcatggag ttccttcggg aacaaaacca tctggggcgg aaacgagtgg 180

[0255] gttgatgatt ccccaacccg aagtgatatc gaaaaaaggg acaaggaaat cacagcgtac 240

[0256] aaaaacacgc tcagcgcgca gcagaaagag aatgagaata agcgtactga agccggaaaa 300

[0257] cgcctctctg cggcgattgc tgcaagggaa aaagatgaaa acacactgaa aacactccgt 360

[0258] gccggaaacg cagatgccgc tgatattaca cgacaggagt tcagactcct gcaggcagag 420

[0259] ctgagagaat acggattccg tactgaaatc gccggatatg acgccctccg gctgcataca 480

[0260] gagagccgga tgctgtttgc tgatgctgat tctcttcgta tatctccccg ggaggccagg 540

[0261] tcgttaatcg aacaggctga aaaacggcag aaggatgcgc agaacgcaga caagaaggcc 600

[0262] gctgatatgc ttgctgaata cgagcgcaga aaaggtattc tggacacccg gttgtcagag 660

[0263] ctggaaaaaa atggcggggc agcccttgcc gttcttgatg cacaacaggc ccgtctgctc 720

[0264] gggcagcaga cacggaatga cagggccatt tcagaggccc ggaataaact cagttcagtg 780

[0265] acggaatcgc ttaacacggc ccgtaatgca ttaaccagag ctgaacaaca gctgacgcaa 840

[0266] cagaaaaaca cgcctgacgg caaaacgata gtttcccctg aaaaattccc ggggcgttca 900

[0267] tcaacaaatc attctattgt tgtgagcggt gatccgagat ttgccggtac gataaaaatc 960

[0268] acaaccagcg cagtcatcga taaccgtgca aacctgaatt atcttctgag ccattccggt 1020

[0269] ctggactata aacgcaatat tctgaatgac cggaatccgg tggtgacaga ggatgtggaa 1080

[0270] ggtgacaaga aaatttataa tgctgaagtt gctgaatggg ataagttacg gcaaagattg 1140

[0271] cttgatgcca gaaataaaat cacctctgct gaatctgcgg taaattcggc gagaaataac 1200

[0272] ctcagtgcca gaacaaatga gcaaaagcat gcaaatgacg ctcttaatgc cctgttgaag 1260

[0273] gaaaaagaga atatacgtaa ccagctttcc ggcatcaatc agaagatagc ggaagagaaa 1320

[0274] agaaaacagg atgaactgaa ggcaacgaaa gacgcaatta atttcacaac agagttcctg 1380

[0275] aaatcagttt cagaaaaata tggtgcaaaa gctgagcagt tagccagaga gatggccggg 1440

[0276] caggctaaag ggaagaaaat acgtaatgtt gaagaggcat taaaaacgta tgaaaagtac 1500

[0277] cgggctgaca ttaacaaaaa aattaatgca aaagatcgtg cagcgattgc cgcagccctt 1560

[0278] gagtctgtga agctgtctga tatatcgtct aatctgaaca gattcagtcg gggactggga 1620

[0279] tatgcaggaa aatttacaag tcttgctgac tggatcactg agtttggtaa ggctgtccgg 1680

[0280] acagagaact ggcgtcctct ttttgttaaa acagaaacca tcatagcagg caatgccgca 1740

[0281] acggctcttg tggcactggt cttcagtatt cttaccggaa gcgctttagg cattatcggg 1800

[0282] tatggtttac tgatggctgt caccggtgcg ctgattgatg aatcgcttgt ggaaaaagcg 1860

[0283] aataagttct ggggttattc cacctgtgat tttataatga tt 1902

[0284] SEQ ID NO.13

[0285] 新型抗生素 PMC-SA1 的人工序列

[0286] Ser Asp Pro Val Arg Ile Thr Asn Pro Ala Ala Glu Ser Leu Gly Tyr

[0287] Asp Ser Asp Gly Arg Glu Ile Met Gly Val Asp Ile Tyr Leu Asn Pro

[0288] Pro Arg Val Asp Val Phe Lys Gly Thr Pro Pro Ala Trp Ser Ser Phe

[0289] Gly Asn Lys Thr Ile Trp Gly Gly Asn Glu Trp Val Asp Asp Ser Pro

[0290] Thr Arg Ser Asp Ile Glu Lys Arg Asp Lys Glu Ile Thr Ala Tyr Lys

[0291] Asn Thr Leu Ser Ala Gln Gln Lys Glu Asn Glu Asn Lys Arg Thr Glu

[0292] Ala Gly Lys Arg Leu Ser Ala Ala Ile Ala Ala Arg Glu Lys Asp Glu

[0293] Asn Thr Leu Lys Thr Leu Arg Ala Gly Asn Ala Asp Ala Ala Asp Ile

[0294] Thr Arg Gln Glu Phe Arg Leu Leu Gln Ala Glu Leu Arg Glu Tyr Gly

[0295] Phe Arg Thr Glu Ile Ala Gly Tyr Asp Ala Leu Arg Leu His Thr Glu

[0296] Ser Arg Met Leu Phe Ala Asp Ala Asp Ser Leu Arg Ile Ser Pro Arg

[0297] Glu Ala Arg Ser Leu Ile Glu Gln Ala Glu Lys Arg Gln Lys Asp Ala

[0298] Gln Asn Ala Asp Lys Lys Ala Ala Asp Met Leu Ala Glu Tyr Glu Arg

[0299] Arg Lys Gly Ile Leu Asp Thr Arg Leu Ser Glu Leu Glu Lys Asn Gly

[0300] Gly Ala Ala Leu Ala Val Leu Asp Ala Gln Gln Ala Arg Leu Leu Gly

[0301] Gln Gln Thr Arg Asn Asp Arg Ala Ile Ser Glu Ala Arg Asn Lys Leu

[0302] Ser Ser Val Thr Glu Ser Leu Asn Thr Ala Arg Asn Ala Leu Thr Arg

[0303] Ala Glu Gln Gln Leu Thr Gln Gln Lys Asn Thr Pro Asp Gly Lys Thr

[0304] Ile Val Ser Pro Glu Lys Phe Pro Gly Arg Ser Ser Thr Asn His Ser

[0305] Ile Val Val Ser Gly Asp Pro Arg Phe Ala Gly Thr Ile Lys Ile Thr

[0306] Thr Ser Ala Val Ile Asp Asn Arg Ala Asn Leu Asn Tyr Leu Leu Ser

[0307] His Ser Gly Leu Asp Tyr Lys Arg Asn Ile Leu Asn Asp Arg Asn Pro

[0308] Val Val Thr Glu Asp Val Glu Gly Asp Lys Lys Ile Tyr Asn Ala Glu

[0309] Val Ala Glu Trp Asp Lys Leu Arg Gln Arg Leu Leu Asp Ala Arg Asn

[0310] Lys Ile Thr Ser Ala Glu Ser Ala Val Asn Ser Ala Arg Asn Asn Leu

[0311] Ser Ala Arg Thr Asn Glu Gln Lys His Ala Asn Asp Ala Leu Asn Ala

[0312] Leu Leu Lys Glu Lys Glu Asn Ile Arg Asn Gln Leu Ser Gly Ile Asn

[0313] Gln Lys Ile Ala Glu Glu Lys Arg Lys Gln Asp Glu Leu Lys Ala Thr

[0314] Lys Asp Ala Ile Asn Phe Thr Thr Glu Phe Leu Lys Ser Val Ser Glu

[0315] Lys Tyr Gly Ala Lys Ala Glu Gln Leu Ala Arg Glu Met Ala Gly Gln

[0316] Ala Lys Gly Lys Lys Ile Arg Asn Val Glu Glu Ala Leu Lys Thr Tyr

[0317] Glu Lys Tyr Arg Ala Asp Ile Asn Lys Lys Ile Asn Ala Lys Asp Arg

[0318] Ala Ala Ile Ala Ala Ala Leu Glu Ser Val Lys Leu Ser Asp Ile Ser

[0319] Ser Asn Leu Asn Arg Phe Ser Arg Gly Leu Gly Tyr Ala Gly Lys Phe

[0320] Thr Ser Leu Ala Asp Trp Ile Thr Glu Phe Gly Lys Ala Val Arg Thr

[0321] Glu Asn Trp Arg Pro Leu Phe Val Lys Thr Glu Thr Ile Ile Ala Gly

[0322] Asn Ala Ala Thr Ala Leu Val Ala Leu Val Phe Ser Ile Leu Thr Gly

[0323] Ser Ala Leu Gly Ile Ile Gly Tyr Gly Leu Leu Met Ala Val Thr Gly

[0324] Ala Leu Ile Asp Glu Ser Leu Val Glu Lys Ala Asn Lys Phe Trp Gly

[0325] Ile Tyr Ser Thr Cys Asp Phe Ile Met

[0326] SEQ ID NO.14

[0327] 编码新型抗生素 PMC-SA2 的基因序列

[0328] atgtctgacc ctgtacgtat tacaaatccc gcagcagaat cgctggggta tgattcagat 60

[0329] ggcaaagaaa ttatggccgt tgatatttat ctcaaccctc cacgtgtcga tgtctttaaa 120

[0330] ggtaccccgc ctgcatggag ttccttcggg aacaaaacca tctggggcgg aaacgagtgg 180

[0331] gttgatgatt ccccaacccg aagtgatatc gaaaaaaggg acaaggaaat cacagcgtac 240

[0332] aaaaacacgc tcagcgcgca gcagaaagag aatgagaata agcgtactga agccggaaaa 300

[0333] cgcctctctg cggcgattgc tgcaagggaa aaagatgaaa acacactgaa aacactccgt 360

[0334] gccggaaacg cagatgccgc tgatattaca cgacaggagt tcagactcct gcaggcagag 420

[0335] ctgagagaat acggattccg tactgaaatc gccggatatg acgccctccg gctgcataca 480

[0336] gagagccgga tgctgtttgc tgatgctgat tctcttcgta tatctccccg ggaggccagg 540

[0337] tcgttaatcg aacaggctga aaaacggcag aaggatgcgc agaacgcaga caagaaggcc 600

[0338] gctgatatgc ttgctgaata cgagcgcaga aaaggtattc tggacacccg gttgtcagag 660

[0339] ctggaaaaaa atggcggggc agcccttgcc gttcttgatg cacaacaggc ccgtctgctc 720

[0340] gggcagcaga cacggaatga cagggccatt tcagaggccc ggaataaact cagttcagtg 780

[0341] acggaatcgc ttaacacggc ccgtaatgca ttaaccagag ctgaacaaca gctgacgcaa 840

[0342] cagaaaaaca cgcctgacgg caaaacgata gtttcccctg aaaaattccc ggggcgttca 900

[0343] tcaacaaatc attctattgt tgtgagcggt gatccgagat ttgccggtac gataaaaatc 960

[0344] acaaccagcg cagtcatcga taaccgtgca aacctgaatt atcttctgag ccattccggt 1020

[0345] ctggactata aacgcaatat tctgaatgac cggaatccgg tggtgacaga ggatgtggaa 1080

[0346] ggtgacaaga aaatttataa tgctgaagtt gctgaatggg ataagttacg gcaaagattg 1140

[0347] cttgatgcca gaaataaaat cacctctgct gaatctgcgg taaattcggc gagaaataac 1200

[0348] ctcagtgcca gaacaaatga gcaaaagcat gcaaatgacg ctcttaatgc cctgttgaag 1260

[0349] gaaaaagaga atatacgtaa ccagctttcc ggcatcaatc agaagatagc ggaagagaaa 1320

[0350] agaaaacagg atgaactgaa ggcaacgaaa gacgcaatta atttcacaac agagttcctg 1380

[0351] aaatcagttt cagaaaaata tggtgcaaaa gctgagcagt tagccagaga gatggccggg 1440

[0352] caggctaaag ggaagaaaat acgtaatgtt gaagaggcat taaaaacgta tgaaaagtac 1500

[0353] cgggctgaca ttaacaaaaa aattaatgca aaagatcgtg cagcgattgc cgcagccctt 1560

[0354] gagtctgtga agctgtctga tatatcgtct aatctgaaca gattcagtcg gggactggga 1620

[0355] tatgcaggaa aatttacaag tcttgctgac tggatcactg agtttggtaa ggctgtccgg 1680

[0356] acagagaact ggcgtcctct ttttgttaaa acagaaacca tcatagcagg caatgccgca 1740

[0357] acggctcttg tggcactggt cttcagtatt cttaccggaa gcgctttagg cattatcggg 1800

[0358] tatggtttac tgatggctgt caccggtgcg ctgattgatg aatcgcttgt ggaaaaagcg 1860

[0359] aataagttct ggggtggagt taacgcatgt tcttccctgt tttaa 1905

[0360] SEQ ID NO.15

[0361] 新型抗生素 PMC-SA2 的人工序列

[0362] Ser Asp Pro Val Arg Ile Thr Asn Pro Ala Ala Glu Ser Leu Gly Tyr

[0363] Asp Ser Asp Gly Arg Glu Ile Met Ala Val Asp Ile Tyr Leu Asn Pro

[0364] Pro Arg Val Asp Val Phe Lys Gly Thr Pro Pro Ala Trp Ser Ser Phe

[0365] Gly Asn Lys Thr Ile Trp Gly Gly Asn Glu Trp Val Asp Asp Ser Pro

[0366] Thr Arg Ser Asp Ile Glu Lys Arg Asp Lys Glu Ile Thr Ala Tyr Lys

[0367] Asn Thr Leu Ser Ala Gln Gln Lys Glu Asn Glu Asn Lys Arg Thr Glu

[0368] Ala Gly Lys Arg Leu Ser Ala Ala Ile Ala Ala Arg Glu Lys Asp Glu

[0369] Asn Thr Leu Lys Thr Leu Arg Ala Gly Asn Ala Asp Ala Ala Asp Ile

[0370] Thr Arg Gln Glu Phe Arg Leu Leu Gln Ala Glu Leu Arg Glu Tyr Gly

[0371] Phe Arg Thr Glu Ile Ala Gly Tyr Asp Ala Leu Arg Leu His Thr Glu

[0372] Ser Arg Met Leu Phe Ala Asp Ala Asp Ser Leu Arg Ile Ser Pro Arg

[0373] Glu Ala Arg Ser Leu Ile Glu Gln Ala Glu Lys Arg Gln Lys Asp Ala

[0374] Gln Asn Ala Asp Lys Lys Ala Ala Asp Met Leu Ala Glu Tyr Glu Arg

[0375] Arg Lys Gly Ile Leu Asp Thr Arg Leu Ser Glu Leu Glu Lys Asn Gly

[0376] Gly Ala Ala Leu Ala Val Leu Asp Ala Gln Gln Ala Arg Leu Leu Gly

[0377] Gln Gln Thr Arg Asn Asp Arg Ala Ile Ser Glu Ala Arg Asn Lys Leu

[0378] Ser Ser Val Thr Glu Ser Leu Asn Thr Ala Arg Asn Ala Leu Thr Arg

[0379] Ala Glu Gln Gln Leu Thr Gln Gln Lys Asn Thr Pro Asp Gly Lys Thr

[0380] Ile Val Ser Pro Glu Lys Phe Pro Gly Arg Ser Ser Thr Asn His Ser

[0381] Ile Val Val Ser Gly Asp Pro Arg Phe Ala Gly Thr Ile Lys Ile Thr

[0382] Thr Ser Ala Val Ile Asp Asn Arg Ala Asn Leu Asn Tyr Leu Leu Ser

[0383] His Ser Gly Leu Asp Tyr Lys Arg Asn Ile Leu Asn Asp Arg Asn Pro

[0384] Val Val Thr Glu Asp Val Glu Gly Asp Lys Lys Ile Tyr Asn Ala Glu

[0385] Val Ala Glu Trp Asp Lys Leu Arg Gln Arg Leu Leu Asp Ala Arg Asn

[0386] Lys Ile Thr Ser Ala Glu Ser Ala Val Asn Ser Ala Arg Asn Asn Leu

[0387] Ser Ala Arg Thr Asn Glu Gln Lys His Ala Asn Asp Ala Leu Asn Ala

[0388] Leu Leu Lys Glu Lys Glu Asn Ile Arg Asn Gln Leu Ser Gly Ile Asn

[0389] Gln Lys Ile Ala Glu Glu Lys Arg Lys Gln Asp Glu Leu Lys Ala Thr

[0390] Lys Asp Ala Ile Asn Phe Thr Thr Glu Phe Leu Lys Ser Val Ser Glu

[0391] Lys Tyr Gly Ala Lys Ala Glu Gln Leu Ala Arg Glu Met Ala Gly Gln

[0392] Ala Lys Gly Lys Lys Ile Arg Asn Val Glu Glu Ala Leu Lys Thr Tyr

[0393] Glu Lys Tyr Arg Ala Asp Ile Asn Lys Lys Ile Asn Ala Lys Asp Arg

[0394] Ala Ala Ile Ala Ala Ala Leu Glu Ser Val Lys Leu Ser Asp Ile Ser

[0395] Ser Asn Leu Asn Arg Phe Ser Arg Gly Leu Gly Tyr Ala Gly Lys Phe

[0396] Thr Ser Leu Ala Asp Trp Ile Thr Glu Phe Gly Lys Ala Val Arg Thr

[0397] Glu Asn Trp Arg Pro Leu Phe Val Lys Thr Glu Thr Ile Ile Ala Gly

[0398] Asn Ala Ala Thr Ala Leu Val Ala Leu Val Phe Ser Ile Leu Thr Gly

[0399] Ser Ala Leu Gly Ile Ile Gly Tyr Gly Leu Leu Met Ala Val Thr Gly

[0400] Ala Leu Ile Asp Glu Ser Leu Val Glu Lys Ala Asn Lys Phe Trp Gly

[0401] Ile Gly Val Asn Ala Cys Ser Ser Leu Phe

[0402] SEQ ID NO.16

[0403] 编码新型抗生素 PMC-SA3 的基因序列

[0404] atgtctgacc ctgtacgtat tacaaatccc gcagcagaat cgctggggta tgattcagat 60

[0405] ggcaaagaaa ttatggccgt tgatatttat ctcaaccctc cacgtgtcga tgtctttaaa 120

[0406] ggtaccccgc ctgcatggag ttccttcggg aacaaaacca tctggggcgg aaacgagtgg 180

[0407] gttgatgatt ccccaacccg aagtgatatc gaaaaaaggg acaaggaaat cacagcgtac 240

[0408] aaaaacacgc tcagcgcgca gcagaaagag aatgagaata agcgtactga agccggaaaa 300

[0409] cgcctctctg cggcgattgc tgcaagggaa aaagatgaaa acacactgaa aacactccgt 360

[0410] gccggaaacg cagatgccgc tgatattaca cgacaggagt tcagactcct gcaggcagag 420

[0411] ctgagagaat acggattccg tactgaaatc gccggatatg acgccctccg gctgcataca 480

[0412] gagagccgga tgctgtttgc tgatgctgat tctcttcgta tatctccccg ggaggccagg 540

[0413] tcgttaatcg aacaggctga aaaacggcag aaggatgcgc agaacgcaga caagaaggcc 600

[0414] gctgatatgc ttgctgaata cgagcgcaga aaaggtattc tggacacccg gttgtcagag 660

[0415] ctggaaaaaa atggcggggc agcccttgcc gttcttgatg cacaacaggc ccgtctgctc 720

[0416] gggcagcaga cacggaatga cagggccatt tcagaggccc ggaataaact cagttcagtg 780

[0417] acggaatcgc ttaacacggc ccgtaatgca ttaaccagag ctgaacaaca gctgacgcaa 840

[0418] cagaaaaaca cgcctgacgg caaaacgata gtttcccctg aaaaattccc ggggcgttca 900

[0419] tcaacaaatc attctattgt tgtgagcggt gatccgagat ttgccggtac gataaaaatc 960

[0420] acaaccagcg cagtcatcga taaccgtgca aacctgaatt atcttctgag ccattccggt 1020

[0421] ctggactata aacgcaatat tctgaatgac cggaatccgg tggtgacaga ggatgtggaa 1080

[0422] ggtgacaaga aaatttataa tgctgaagtt gctgaatggg ataagttacg gcaaagattg 1140

[0423] cttgatgcca gaaataaaat cacctctgct gaatctgcgg taaattcggc gagaaataac 1200

[0424] ctcagtgcca gaacaaatga gcaaaagcat gcaaatgacg ctcttaatgc cctgttgaag 1260

[0425] gaaaaagaga atatacgtaa ccagctttcc ggcatcaatc agaagatagc ggaagagaaa 1320

[0426] agaaaacagg atgaactgaa ggcaacgaaa gacgcaatta atttcacaac agagttcctg 1380

[0427] aaatcagttt cagaaaaata tggtgcaaaa gctgagcagt tagccagaga gatggccggg 1440

[0428] caggctaaag ggaagaaaat acgtaatgtt gaagaggcat taaaaacgta tgaaaagtac 1500

[0429] cgggctgaca ttaacaaaaa aattaatgca aaagatcgtg cagcgattgc cgcagccctt 1560

[0430] gagtctgtga agctgtctga tatatcgtct aatctgaaca gattcagtcg gggactggga 1620

[0431] tatgcaggaa aatttacaag tcttgctgac tggatcactg agtttggtaa ggctgtccgg 1680

[0432] acagagaact ggcgtcctct ttttgttaaa acagaaacca tcatagcagg caatgccgca 1740

[0433] acggctcttg tggcactggt cttcagtatt cttaccggaa gcgctttagg cattatcggg 1800

[0434] tatggtttac tgatggctgt caccggtgcg ctgattgatg aatcgcttgt ggaaaaagcg 1860

[0435] aataagttct ggggtattta tataaactgt gattttcttc tgtaa 1905

[0436] SEQ ID NO 17

[0437] 新型抗生素 PMC-SA3 的人工序列

[0438] Ser Asp Pro Val Arg Ile Thr Asn Pro Ala Ala Glu Ser Leu Gly Tyr

[0439] Asp Ser Asp Gly Arg Glu Ile Met Gly Val Asp Ile Tyr Leu Asn Pro

[0440] Pro Arg Val Asp Val Phe Lys Gly Thr Pro Pro Ala Trp Ser Ser Phe

[0441] Gly Asn Lys Thr Ile Trp Gly Gly Asn Glu Trp Val Asp Asp Ser Pro

[0442] Thr Arg Ser Asp Ile Glu Lys Arg Asp Lys Glu Ile Thr Ala Tyr Lys

[0443] Asn Thr Leu Ser Ala Gln Gln Lys Glu Asn Glu Asn Lys Arg Thr Glu

[0444] Ala Gly Lys Arg Leu Ser Ala Ala Ile Ala Ala Arg Glu Lys Asp Glu

[0445] Asn Thr Leu Lys Thr Leu Arg Ala Gly Asn Ala Asp Ala Ala Asp Ile

[0446] Thr Arg Gln Glu Phe Arg Leu Leu Gln Ala Glu Leu Arg Glu Tyr Gly

[0447] Phe Arg Thr Glu Ile Ala Gly Tyr Asp Ala Leu Arg Leu His Thr Glu

[0448] Ser Arg Met Leu Phe Ala Asp Ala Asp Ser Leu Arg Ile Ser Pro Arg

[0449] Glu Ala Arg Ser Leu Ile Glu Gln Ala Glu Lys Arg Gln Lys Asp Ala

[0450] Gln Asn Ala Asp Lys Lys Ala Ala Asp Met Leu Ala Glu Tyr Glu Arg

[0451] Arg Lys Gly Ile Leu Asp Thr Arg Leu Ser Glu Leu Glu Lys Asn Gly

[0452] Gly Ala Ala Leu Ala Val Leu Asp Ala Gln Gln Ala Arg Leu Leu Gly

[0453] Gln Gln Thr Arg Asn Asp Arg Ala Ile Ser Glu Ala Arg Asn Lys Leu

[0454] Ser Ser Val Thr Glu Ser Leu Asn Thr Ala Arg Asn Ala Leu Thr Arg

[0455] Ala Glu Gln Gln Leu Thr Gln Gln Lys Asn Thr Pro Asp Gly Lys Thr

[0456] Ile Val Ser Pro Glu Lys Phe Pro Gly Arg Ser Ser Thr Asn His Ser

[0457] Ile Val Val Ser Gly Asp Pro Arg Phe Ala Gly Thr Ile Lys Ile Thr

[0458] Thr Ser Ala Val Ile Asp Asn Arg Ala Asn Leu Asn Tyr Leu Leu Ser

[0459] His Ser Gly Leu Asp Tyr Lys Arg Asn Ile Leu Asn Asp Arg Asn Pro

[0460] Val Val Thr Glu Asp Val Glu Gly Asp Lys Lys Ile Tyr Asn Ala Glu

[0461] Val Ala Glu Trp Asp Lys Leu Arg Gln Arg Leu Leu Asp Ala Arg Asn

[0462] Lys Ile Thr Ser Ala Glu Ser Ala Val Asn Ser Ala Arg Asn Asn Leu

[0463] Ser Ala Arg Thr Asn Glu Gln Lys His Ala Asn Asp Ala Leu Asn Ala

[0464] Leu Leu Lys Glu Lys Glu Asn Ile Arg Asn Gln Leu Ser Gly Ile Asn

[0465] Gln Lys Ile Ala Glu Glu Lys Arg Lys Gln Asp Glu Leu Lys Ala Thr

[0466] Lys Asp Ala Ile Asn Phe Thr Thr Glu Phe Leu Lys Ser Val Ser Glu

[0467] Lys Tyr Gly Ala Lys Ala Glu Gln Leu Ala Arg Glu Met Ala Gly Gln

[0468] Ala Lys Gly Lys Lys Ile Arg Asn Val Glu Glu Ala Leu Lys Thr Tyr

[0469] Glu Lys Tyr Arg Ala Asp Ile Asn Lys Lys Ile Asn Ala Lys Asp Arg

[0470] Ala Ala Ile Ala Ala Ala Leu Glu Ser Val Lys Leu Ser Asp Ile Ser

[0471] Ser Asn Leu Asn Arg Phe Ser Arg Gly Leu Gly Tyr Ala Gly Lys Phe

[0472] Thr Ser Leu Ala Asp Trp Ile Thr Glu Phe Gly Lys Ala Val Arg Thr

[0473] Glu Asn Trp Arg Pro Leu Phe Val Lys Thr Glu Thr Ile Ile Ala Gly

[0474] Asn Ala Ala Thr Ala Leu Val Ala Leu Val Phe Ser Ile Leu Thr Gly

[0475] Ser Ala Leu Gly Ile Ile Gly Tyr Gly Leu Leu Met Ala Val Thr Gly

[0476] Ala Leu Ile Asp Glu Ser Leu Val Glu Lys Ala Asn Lys Phe Trp Gly

[0477] Ile Tyr Ile Asn Cys Asp Phe Leu Leu

[0478] SEQ ID NO 18

[0479] 编码新型抗生素 PMC-SA4 的基因序列

[0480] atgtctgacc ctgtacgtat tacaaatccc gcagcagaat cgctggggta tgattcagat 60

[0481] ggcaaagaaa ttatgggtgt tgatatttat ctcaaccctc cacgtgtcga tgtctttaaa 120

[0482] ggtaccccgc ctgcatggag ttccttcggg aacaaaacca tctggggcgg aaacgagtgg 180

[0483] gttgatgatt ccccaacccg aagtgatatc gaaaaaaggg acaaggaaat cacagcgtac 240

[0484] aaaaacacgc tcagcgcgca gcagaaagag aatgagaata agcgtactga agccggaaaa 300

[0485] cgcctctctg cggcgattgc tgcaagggaa aaagatgaaa acacactgaa aacactccgt 360

[0486] gccggaaacg cagatgccgc tgatattaca cgacaggagt tcagactcct gcaggcagag 420

[0487] ctgagagaat acggattccg tactgaaatc gccggatatg acgccctccg gctgcataca 480

[0488] gagagccgga tgctgtttgc tgatgctgat tctcttcgta tatctccccg ggaggccagg 540

[0489] tcgttaatcg aacaggctga aaaacggcag aaggatgcgc agaacgcaga caagaaggcc 600

[0490] gctgatatgc ttgctgaata cgagcgcaga aaaggtattc tggacacccg gttgtcagag 660

[0491] ctggaaaaaa atggcggggc agcccttgcc gttcttgatg cacaacaggc ccgtctgctc 720

[0492] gggcagcaga cacggaatga cagggccatt tcagaggccc ggaataaact cagttcagtg 780

[0493] acggaatcgc ttaacacggc ccgtaatgca ttaaccagag ctgaacaaca gctgacgcaa 840

[0494] cagaaaaaca cgcctgacgg caaaacgata gtttcccctg aaaaattccc ggggcgttca 900

[0495] tcaacaaatc attctattgt tgtgagcggt gatccgagat ttgccggtac gataaaaatc 960

[0496] acaaccagcg cagtcatcga taaccgtgca aacctgaatt atcttctgag ccattccggt 1020

[0497] ctggactata aacgcaatat tctgaatgac cggaatccgg tggtgacaga ggatgtggaa 1080

[0498] ggtgacaaga aaatttataa tgctgaagtt gctgaatggg ataagttacg gcaaagattg 1140

[0499] cttgatgcca gaaataaaat cacctctgct gaatctgcgg taaattcggc gagaaataac 1200

[0500] ctcagtgcca gaacaaatga gcaaaagcat gcaaatgacg ctcttaatgc cctgttgaag 1260

[0501] gaaaaagaga atatacgtaa ccagctttcc ggcatcaatc agaagatagc ggaagagaaa 1320

[0502] agaaaacagg atgaactgaa ggcaacgaaa gacgcaatta atttcacaac agagttcctg 1380

[0503] aaatcagttt cagaaaaata tggtgcaaaa gctgagcagt tagccagaga gatggccggg 1440

[0504] caggctaaag ggaagaaaat acgtaatgtt gaagaggcat taaaaacgta tgaaaagtac 1500

[0505] cgggctgaca ttaacaaaaa aattaatgca aaagatcgtg cagcgattgc cgcagccctt 1560

[0506] gagtctgtga agctgtctga tatatcgtct aatctgaaca gattcagtcg gggactggga 1620

[0507] tatgcaggaa aatttacaag tcttgctgac tggatcactg agtttggtaa ggctgtccgg 1680

[0508] acagagaact ggcgtcctct ttttgttaaa acagaaacca tcatagcagg caatgccgca 1740

[0509] acggctcttg tggcactggt cttcagtatt cttaccggaa gcgctttagg cattatcggg 1800

[0510] tatggtttac tgatggctgt caccggtgcg ctgattgatg aatcgcttgt ggaaaaagcg 1860

[0511] aataagttct ggggttattc cacctgtgat tttataatga tt 1902

[0512] SEQ ID NO.19

[0513] 新型抗生素 PMC-SA4 的人工序列

[0514] Ser Asp Pro Val Arg Ile Thr Asn Pro Ala Ala Glu Ser Leu Gly Tyr

[0515] Asp Ser Asp Gly Arg Glu Ile Met Gly Val Asp Ile Tyr Leu Asn Pro

[0516] Pro Arg Val Asp Val Phe Lys Gly Thr Pro Pro Ala Trp Ser Ser Phe

[0517] Gly Asn Lys Thr Ile Trp Gly Gly Asn Glu Trp Val Asp Asp Ser Pro

[0518] Thr Arg Ser Asp Ile Glu Lys Arg Asp Lys Glu Ile Thr Ala Tyr Lys

[0519] Asn Thr Leu Ser Ala Gln Gln Lys Glu Asn Glu Asn Lys Arg Thr Glu

[0520] Ala Gly Lys Arg Leu Ser Ala Ala Ile Ala Ala Arg Glu Lys Asp Glu

[0521] Asn Thr Leu Lys Thr Leu Arg Ala Gly Asn Ala Asp Ala Ala Asp Ile

[0522] Thr Arg Gln Glu Phe Arg Leu Leu Gln Ala Glu Leu Arg Glu Tyr Gly

[0523] Phe Arg Thr Glu Ile Ala Gly Tyr Asp Ala Leu Arg Leu His Thr Glu

[0524] Ser Arg Met Leu Phe Ala Asp Ala Asp Ser Leu Arg Ile Ser Pro Arg

[0525] Glu Ala Arg Ser Leu Ile Glu Gln Ala Glu Lys Arg Gln Lys Asp Ala

[0526] Gln Asn Ala Asp Lys Lys Ala Ala Asp Met Leu Ala Glu Tyr Glu Arg

[0527] Arg Lys Gly Ile Leu Asp Thr Arg Leu Ser Glu Leu Glu Lys Asn Gly

[0528] Gly Ala Ala Leu Ala Val Leu Asp Ala Gln Gln Ala Arg Leu Leu Gly

[0529] Gln Gln Thr Arg Asn Asp Arg Ala Ile Ser Glu Ala Arg Asn Lys Leu

[0530] Ser Ser Val Thr Glu Ser Leu Asn Thr Ala Arg Asn Ala Leu Thr Arg

[0531] Ala Glu Gln Gln Leu Thr Gln Gln Lys Asn Thr Pro Asp Gly Lys Thr

[0532] Ile Val Ser Pro Glu Lys Phe Pro Gly Arg Ser Ser Thr Asn His Ser

[0533] Ile Val Val Ser Gly Asp Pro Arg Phe Ala Gly Thr Ile Lys Ile Thr

[0534] Thr Ser Ala Val Ile Asp Asn Arg Ala Asn Leu Asn Tyr Leu Leu Ser

[0535] His Ser Gly Leu Asp Tyr Lys Arg Asn Ile Leu Asn Asp Arg Asn Pro

[0536] Val Val Thr Glu Asp Val Glu Gly Asp Lys Lys Ile Tyr Asn Ala Glu

[0537] Val Ala Glu Trp Asp Lys Leu Arg Gln Arg Leu Leu Asp Ala Arg Asn

[0538] Lys Ile Thr Ser Ala Glu Ser Ala Val Asn Ser Ala Arg Asn Asn Leu

[0539] Ser Ala Arg Thr Asn Glu Gln Lys His Ala Asn Asp Ala Leu Asn Ala

[0540] Leu Leu Lys Glu Lys Glu Asn Ile Arg Asn Gln Leu Ser Gly Ile Asn

[0541] Gln Lys Ile Ala Glu Glu Lys Arg Lys Gln Asp Glu Leu Lys Ala Thr

[0542] Lys Asp Ala Ile Asn Phe Thr Thr Glu Phe Leu Lys Ser Val Ser Glu

[0543] Lys Tyr Gly Ala Lys Ala Glu Gln Leu Ala Arg Glu Met Ala Gly Gln

[0544] Ala Lys Gly Lys Lys Ile Arg Asn Val Glu Glu Ala Leu Lys Thr Tyr

[0545] Glu Lys Tyr Arg Ala Asp Ile Asn Lys Lys Ile Asn Ala Lys Asp Arg

[0546] Ala Ala Ile Ala Ala Ala Leu Glu Ser Val Lys Leu Ser Asp Ile Ser

[0547] Ser Asn Leu Asn Arg Phe Ser Arg Gly Leu Gly Tyr Ala Gly Lys Phe

[0548] Thr Ser Leu Ala Asp Trp Ile Thr Glu Phe Gly Lys Ala Val Arg Thr

[0549] Glu Asn Trp Arg Pro Leu Phe Val Lys Thr Glu Thr Ile Ile Ala Gly

[0550] Asn Ala Ala Thr Ala Leu Val Ala Leu Val Phe Ser Ile Leu Thr Gly

[0551] Ser Ala Leu Gly Ile Ile Gly Tyr Gly Leu Leu Met Ala Val Thr Gly

[0552] Ala Leu Ile Asp Glu Ser Leu Val Glu Lys Ala Asn Lys Phe Trp Gly

[0553] Ile Tyr Ser Thr Cys Tyr Phe Ile Met

[0554] SEQ ID NO.20

[0555] 编码新型抗生素 PMC-SE 的基因序列

[0556] atgtctgacc ctgtacgtat tacaaatccc gcagcagaat cgctggggta tgattcagat 60

[0557] ggcaaagaaa ttatgggtgt tgatatttat ctcaaccctc cacgtgtcga tgtctttaaa 120

[0558] ggtaccccgc ctgcatggag ttccttcggg aacaaaacca tctggggcgg aaacgagtgg 180

[0559] gttgatgatt ccccaacccg aagtgatatc gaaaaaaggg acaaggaaat cacagcgtac 240

[0560] aaaaacacgc tcagcgcgca gcagaaagag aatgagaata agcgtactga agccggaaaa 300

[0561] cgcctctctg cggcgattgc tgcaagggaa aaagatgaaa acacactgaa aacactccgt 360

[0562] gccggaaacg cagatgccgc tgatattaca cgacaggagt tcagactcct gcaggcagag 420

[0563] ctgagagaat acggattccg tactgaaatc gccggatatg acgccctccg gctgcataca 480

[0564] gagagccgga tgctgtttgc tgatgctgat tctcttcgta tatctccccg ggaggccagg 540

[0565] tcgttaatcg aacaggctga aaaacggcag aaggatgcgc agaacgcaga caagaaggcc 600

[0566] gctgatatgc ttgctgaata cgagcgcaga aaaggtattc tggacacccg gttgtcagag 660

[0567] ctggaaaaaa atggcggggc agcccttgcc gttcttgatg cacaacaggc ccgtctgctc 720

[0568] gggcagcaga cacggaatga cagggccatt tcagaggccc ggaataaact cagttcagtg 780

[0569] acggaatcgc ttaacacggc ccgtaatgca ttaaccagag ctgaacaaca gctgacgcaa 840

[0570] cagaaaaaca cgcctgacgg caaaacgata gtttcccctg aaaaattccc ggggcgttca 900

[0571] tcaacaaatc attctattgt tgtgagcggt gatccgagat ttgccggtac gataaaaatc 960

[0572] acaaccagcg cagtcatcga taaccgtgca aacctgaatt atcttctgag ccattccggt 1020

[0573] ctggactata aacgcaatat tctgaatgac cggaatccgg tggtgacaga ggatgtggaa 1080

[0574] ggtgacaaga aaatttataa tgctgaagtt gctgaatggg ataagttacg gcaaagattg 1140

[0575] cttgatgcca gaaataaaat cacctctgct gaatctgcgg taaattcggc gagaaataac 1200

[0576] ctcagtgcca gaacaaatga gcaaaagcat gcaaatgacg ctcttaatgc cctgttgaag 1260

[0577] gaaaaagaga atatacgtaa ccagctttcc ggcatcaatc agaagatagc ggaagagaaa 1320

[0578] agaaaacagg atgaactgaa ggcaacgaaa gacgcaatta atttcacaac agagttcctg 1380

[0579] aaatcagttt cagaaaaata tggtgcaaaa gctgagcagt tagccagaga gatggccggg 1440

[0580] caggctaaag ggaagaaaat acgtaatgtt gaagaggcat taaaaacgta tgaaaagtac 1500

[0581] cgggctgaca ttaacaaaaa aattaatgca aaagatcgtg cagcgattgc cgcagccctt 1560

[0582] gagtctgtga agctgtctga tatatcgtct aatctgaaca gattcagtcg gggactggga 1620

[0583] tatgcaggaa aatttacaag tcttgctgac tggatcactg agtttggtaa ggctgtccgg 1680

[0584] acagagaact ggcgtcctct ttttgttaaa acagaaacca tcatagcagg caatgccgca 1740

[0585] acggctcttg tggcactggt cttcagtatt cttaccggaa gcgctttagg cattatcggg 1800

[0586] tatggtttac tgatggctgt caccggtgcg ctgattgatg aatcgcttgt ggaaaaagcg 1860

[0587] aataagttct ggggtgattc cgtttgtgca tcctatttta tt 1902

[0588] SEQ ID NO.21

[0589] 新型抗生素 PMC-SE 的人工序列

[0590] Ser Asp Pro Val Arg Ile Thr Asn Pro Ala Ala Glu Ser Leu Gly Tyr

[0591] Asp Ser Asp Gly Arg Glu Ile Met Gly Val Asp Ile Tyr Leu Asn Pro

[0592] Pro Arg Val Asp Val Phe Lys Gly Thr Pro Pro Ala Trp Ser Ser Phe

[0593] Gly Asn Lys Thr Ile Trp Gly Gly Asn Glu Trp Val Asp Asp Ser Pro

[0594] Thr Arg Ser Asp Ile Glu Lys Arg Asp Lys Glu Ile Thr Ala Tyr Lys

[0595] Asn Thr Leu Ser Ala Gln Gln Lys Glu Asn Glu Asn Lys Arg Thr Glu

[0596] Ala Gly Lys Arg Leu Ser Ala Ala Ile Ala Ala Arg Glu Lys Asp Glu

[0597] Asn Thr Leu Lys Thr Leu Arg Ala Gly Asn Ala Asp Ala Ala Asp Ile

[0598] Thr Arg Gln Glu Phe Arg Leu Leu Gln Ala Glu Leu Arg Glu Tyr Gly

[0599] Phe Arg Thr Glu Ile Ala Gly Tyr Asp Ala Leu Arg Leu His Thr Glu

[0600] Ser Arg Met Leu Phe Ala Asp Ala Asp Ser Leu Arg Ile Ser Pro Arg

[0601] Glu Ala Arg Ser Leu Ile Glu Gln Ala Glu Lys Arg Gln Lys Asp Ala

[0602] Gln Asn Ala Asp Lys Lys Ala Ala Asp Met Leu Ala Glu Tyr Glu Arg

[0603] Arg Lys Gly Ile Leu Asp Thr Arg Leu Ser Glu Leu Glu Lys Asn Gly

[0604] Gly Ala Ala Leu Ala Val Leu Asp Ala Gln Gln Ala Arg Leu Leu Gly

[0605] Gln Gln Thr Arg Asn Asp Arg Ala Ile Ser Glu Ala Arg Asn Lys Leu

[0606] Ser Ser Val Thr Glu Ser Leu Asn Thr Ala Arg Asn Ala Leu Thr Arg

[0607] Ala Glu Gln Gln Leu Thr Gln Gln Lys Asn Thr Pro Asp Gly Lys Thr

[0608] Ile Val Ser Pro Glu Lys Phe Pro Gly Arg Ser Ser Thr Asn His Ser

[0609] Ile Val Val Ser Gly Asp Pro Arg Phe Ala Gly Thr Ile Lys Ile Thr

[0610] Thr Ser Ala Val Ile Asp Asn Arg Ala Asn Leu Asn Tyr Leu Leu Ser

[0611] His Ser Gly Leu Asp Tyr Lys Arg Asn Ile Leu Asn Asp Arg Asn Pro

[0612] Val Val Thr Glu Asp Val Glu Gly Asp Lys Lys Ile Tyr Asn Ala Glu

[0613] Val Ala Glu Trp Asp Lys Leu Arg Gln Arg Leu Leu Asp Ala Arg Asn

[0614] Lys Ile Thr Ser Ala Glu Ser Ala Val Asn Ser Ala Arg Asn Asn Leu

[0615] Ser Ala Arg Thr Asn Glu Gln Lys His Ala Asn Asp Ala Leu Asn Ala

[0616] Leu Leu Lys Glu Lys Glu Asn Ile Arg Asn Gln Leu Ser Gly Ile Asn

[0617] Gln Lys Ile Ala Glu Glu Lys Arg Lys Gln Asp Glu Leu Lys Ala Thr

[0618] Lys Asp Ala Ile Asn Phe Thr Thr Glu Phe Leu Lys Ser Val Ser Glu

[0619] Lys Tyr Gly Ala Lys Ala Glu Gln Leu Ala Arg Glu Met Ala Gly Gln

[0620] Ala Lys Gly Lys Lys Ile Arg Asn Val Glu Glu Ala Leu Lys Thr Tyr

[0621] Glu Lys Tyr Arg Ala Asp Ile Asn Lys Lys Ile Asn Ala Lys Asp Arg

[0622] Ala Ala Ile Ala Ala Ala Leu Glu Ser Val Lys Leu Ser Asp Ile Ser

[0623] Ser Asn Leu Asn Arg Phe Ser Arg Gly Leu Gly Tyr Ala Gly Lys Phe

[0624] Thr Ser Leu Ala Asp Trp Ile Thr Glu Phe Gly Lys Ala Val Arg Thr

[0625] Glu Asn Trp Arg Pro Leu Phe Val Lys Thr Glu Thr Ile Ile Ala Gly

[0626] Asn Ala Ala Thr Ala Leu Val Ala Leu Val Phe Ser Ile Leu Thr Gly

[0627] Ser Ala Leu Gly Ile Ile Gly Tyr Gly Leu Leu Met Ala Val Thr Gly

[0628] Ala Leu Ile Asp Glu Ser Leu Val Glu Lys Ala Asn Lys Phe Trp Gly

[0629] Ile Asp Ser Val Cys Ala Ser Tyr Phe

[0630] SEQ ID NO.22

[0631] 编码新型抗生素 PMC-SA 的基因序列

[0632] atgtattcca cctgtgattt tataatgtct gaccctgtac gtattacaaa tcccgcagca 60

[0633] gaatcgctgg ggtatgattc agatggcaaa gaaattatgg gtgttgatat ttatctcaac 120

[0634] cctccacgtg tcgatgtctt taaaggtacc ccgcctgcat ggagttcctt cgggaacaaa 180

[0635] accatctggg gcggaaacga gtgggttgat gattccccaa cccgaagtga tatcgaaaaa 240

[0636] agggacaagg aaatcacagc gtacaaaaac acgctcagcg cgcagcagaa agagaatgag 300

[0637] aataagcgta ctgaagccgg aaaacgcctc tctgcggcga ttgctgcaag ggaaaaagat 360

[0638] gaaaacacac tgaaaacact ccgtgccgga aacgcagatg ccgctgatat tacacgacag 420

[0639] gagttcagac tcctgcaggc agagctgaga gaatacggat tccgtactga aatcgccgga 480

[0640] tatgacgccc tccggctgca tacagagagc cggatgctgt ttgctgatgc tgattctctt 540

[0641] cgtatatctc cccgggaggc caggtcgtta atcgaacagg ctgaaaaacg gcagaaggat 600

[0642] gcgcagaacg cagacaagaa ggccgctgat atgcttgctg aatacgagcg cagaaaaggt 660

[0643] attctggaca cccggttgtc agagctggaa aaaaatggcg gggcagccct tgccgttctt 720

[0644] gatgcacaac aggcccgtct gctcgggcag cagacacgga atgacagggc catttcagag 780

[0645] gcccggaata aactcagttc agtgacggaa tcgcttaaca cggcccgtaa tgcattaacc 840

[0646] agagctgaac aacagctgac gcaacagaaa aacacgcctg acggcaaaac gatagtttcc 900

[0647] cctgaaaaat tcccggggcg ttcatcaaca aatcattcta ttgttgtgag cggtgatccg 960

[0648] agatttgccg gtacgataaa aatcacaacc agcgcagtca tcgataaccg tgcaaacctg 1020

[0649] aattatcttc tgagccattc cggtctggac tataaacgca atattctgaa tgaccggaat 1080

[0650] ccggtggtga cagaggatgt ggaaggtgac aagaaaattt ataatgctga agttgctgaa 1140

[0651] tgggataagt tacggcaaag attgcttgat gccagaaata aaatcacctc tgctgaatct 1200

[0652] gcggtaaatt cggcgagaaa taacctcagt gccagaacaa atgagcaaaa gcatgcaaat 1260

[0653] gacgctctta atgccctgtt gaaggaaaaa gagaatatac gtaaccagct ttccggcatc 1320

[0654] aatcagaaga tagcggaaga gaaaagaaaa caggatgaac tgaaggcaac gaaagacgca 1380

[0655] attaatttca caacagagtt cctgaaatca gtttcagaaa aatatggtgc aaaagctgag 1440

[0656] cagttagcca gagagatggc cgggcaggct aaagggaaga aaatacgtaa tgttgaagag 1500

[0657] gcattaaaaa cgtatgaaaa gtaccgggct gacattaaca aaaaaattaa tgcaaaagat 1560

[0658] cgtgcagcga ttgccgcagc ccttgagtct gtgaagctgt ctgatatatc gtctaatctg 1620

[0659] aacagattca gtcggggact gggatatgca ggaaaattta caagtcttgc tgactggatc 1680

[0660] actgagtttg gtaaggctgt ccggacagag aactggcgtc ctcttttgt taaaacagaa 1740

[0661] accatcatag caggcaatgc cgcaacggct cttgtggcac tggtcttcag tattcttacc 1800

[0662] ggaagcgctt taggcattat cgggtatggt ttactgatgg ctgtcaccgg tgcgctgatt 1860

[0663] gatgaatcgc ttgtggaaaa agcgaataag ttctggggta tt 1902

[0664] SEQ ID NO.23

[0665] 新型抗生素 PMC-SA 的肽链

[0666] Tyr Ser Thr Cys Asp Phe Ile Met Ser Asp Pro Val Arg Ile Thr Asn

[0667] Pro Ala Ala Glu Ser Leu Gly Tyr Asp Ser Asp Gly Arg Glu Ile Met

[0668] Gly Val Asp Ile Tyr Leu Asn Pro Pro Arg Val Asp Val Phe Lys Gly

[0669] Thr Pro Pro Ala Trp Ser Ser Phe Gly Asn Lys Thr Ile Trp Gly Gly

[0670] Asn Glu Trp Val Asp Asp Ser Pro Thr Arg Ser Asp Ile Glu Lys Arg

[0671] Asp Lys Glu Ile Thr Ala Tyr Lys Asn Thr Leu Ser Ala Gln Gln Lys

[0672] Glu Asn Glu Asn Lys Arg Thr Glu Ala Gly Lys Arg Leu Ser Ala Ala

[0673] Ile Ala Ala Arg Glu Lys Asp Glu Asn Thr Leu Lys Thr Leu Arg Ala

[0674] Gly Asn Ala Asp Ala Ala Asp Ile Thr Arg Gln Glu Phe Arg Leu Leu

[0675] Gln Ala Glu Leu Arg Glu Tyr Gly Phe Arg Thr Glu Ile Ala Gly Tyr

[0676] Asp Ala Leu Arg Leu His Thr Glu Ser Arg Met Leu Phe Ala Asp Ala

[0677] Asp Ser Leu Arg Ile Ser Pro Arg Glu Ala Arg Ser Leu Ile Glu Gln

[0678] Ala Glu Lys Arg Gln Lys Asp Ala Gln Asn Ala Asp Lys Lys Ala Ala

[0679] Asp Met Leu Ala Glu Tyr Glu Arg Arg Lys Gly Ile Leu Asp Thr Arg

[0680] Leu Ser Glu Leu Glu Lys Asn Gly Gly Ala Ala Leu Ala Val Leu Asp

[0681] Ala Gln Gln Ala Arg Leu Leu Gly Gln Gln Thr Arg Asn Asp Arg Ala

[0682] Ile Ser Glu Ala Arg Asn Lys Leu Ser Ser Val Thr Glu Ser Leu Asn

[0683] Thr Ala Arg Asn Ala Leu Thr Arg Ala Glu Gln Gln Leu Thr Gln Gln

[0684] Lys Asn Thr Pro Asp Gly Lys Thr Ile Val Ser Pro Glu Lys Phe Pro

[0685] Gly Arg Ser Ser Thr Asn His Ser Ile Val Val Ser Gly Asp Pro Arg

[0686] Phe Ala Gly Thr Ile Lys Ile Thr Thr Ser Ala Val Ile Asp Asn Arg

[0687] Ala Asn Leu Asn Tyr Leu Leu Ser His Ser Gly Leu Asp Tyr Lys Arg

[0688] Asn Ile Leu Asn Asp Arg Asn Pro Val Val Thr Glu Asp Val Glu Gly

[0689] Asp Lys Lys Ile Tyr Asn Ala Glu Val Ala Glu Trp Asp Lys Leu Arg

[0690] Gln Arg Leu Leu Asp Ala Arg Asn Lys Ile Thr Ser Ala Glu Ser Ala

[0691] Val Asn Ser Ala Arg Asn Asn Leu Ser Ala Arg Thr Asn Glu Gln Lys

[0692] His Ala Asn Asp Ala Leu Asn Ala Leu Leu Lys Glu Lys Glu Asn Ile

[0693] Arg Asn Gln Leu Ser Gly Ile Asn Gln Lys Ile Ala Glu Glu Lys Arg

[0694] Lys Gln Asp Glu Leu Lys Ala Thr Lys Asp Ala Ile Asn Phe Thr Thr

[0695] Glu Phe Leu Lys Ser Val Ser Glu Lys Tyr Gly Ala Lys Ala Glu Gln

[0696] Leu Ala Arg Glu Met Ala Gly Gln Ala Lys Gly Lys Lys Ile Arg Asn

[0697] Val Glu Glu Ala Leu Lys Thr Tyr Glu Lys Tyr Arg Ala Asp Ile Asn

[0698] Lys Lys Ile Asn Ala Lys Asp Arg Ala Ala Ile Ala Ala Ala Leu Glu

[0699] Ser Val Lys Leu Ser Asp Ile Ser Ser Asn Leu Asn Arg Phe Ser Arg

[0700] Gly Leu Gly Tyr Ala Gly Lys Phe Thr Ser Leu Ala Asp Trp Ile Thr

[0701] Glu Phe Gly Lys Ala Val Arg Thr Glu Asn Trp Arg Pro Leu Phe Val

[0702] Lys Thr Glu Thr Ile Ile Ala Gly Asn Ala Ala Thr Ala Leu Val Ala

[0703] Leu Val Phe Ser Ile Leu Thr Gly Ser Ala Leu Gly Ile Ile Gly Tyr

[0704] Gly Leu Leu Met Ala Val Thr Gly Ala Leu Ile Asp Glu Ser Leu Val

[0705] Glu Lys Ala Asn Lys Phe Trp Gly Ile

[0706] SEQ ID NO.24

[0707] 金黄色葡萄球菌信息素 AgrDI 基因的 5′ 引物

[0708] gcgaataagt tctggggtat ttattccacc tgtgatttta taatgtaaat aaaatataag 60

[0709] acaggc 66

[0710] SEQ ID NO.25

[0711] 金黄色葡萄球菌信息素 AgrDI 基因的 3′ 引物

[0712] gcctgtctta tattttattt acattataaa atcacaggtg gaataaatac cccagaactt 60

[0713] attcgc 66

[0714] SEQ ID NO.26

[0715] 金黄色葡萄球菌信息素 AgrDII 基因的 5′ 引物

[0716] gcgaataagt tctggggtat tggagttaac gcatgttctt ccctgtttta aataaaatat 60

[0717] aagacaggc 69

[0718] SEQ ID NO.27

[0719] 金黄色葡萄球菌信息素 AgrDII 基因的 3′ 引物

[0720] gcctgtctta tattttattt aaaacaggga agaacatgcg ttaactccaa taccccagaa 60

[0721] cttattcgc 69

[0722] SEQ ID NO.28

[0723] 金黄色葡萄球菌信息素 AgrD III 基因的 5’引物

[0724] gcgaataagt tctggggtat ttatataaac tgtgattttc ttctgtaaat aaaatataag 60

[0725] acaggc 66

[0726] SEQ ID NO.29

[0727] 金黄色葡萄球菌信息素 AgrD III 基因的 3’引物

[0728] gcctgtctta tattttattt acagaagaaa atcacagttt atataaatac cccagaactt 60

[0729] attcgc 66

[0730] SEQ ID NO.30

[0731] 金黄色葡萄球菌信息素 AgrDIV 基因 5’引物

[0732] gcgaataagt tctggggtat ttattccacc tgttacttta taatgtaaat aaaatataag 60

[0733] acaggc 66

[0734] SEQ ID NO.31

[0735] 金黄色葡萄球菌信息素 AgrDIV 基因 3’引物

[0736] gcctgtctta tattttattt acattataaa gtaacaggtg gaataaatac cccagaactt 60

[0737] attcgc 66

[0738] SEQ ID NO.32

[0739] 用于制备绿脓杆菌抗生素的金黄色葡萄球菌信息素 AgrDI 基因的 5′ 引物

[0740] ggatgaagga gataccgaat gtattccacc tgtgatttta taatgtctga ccctgtacgt 60

[0741] attaca 66

[0742] SEQ ID NO.33

[0743] <213>用于制备绿脓杆菌抗生素的金黄色葡萄球菌信息素 AgrDI 基因的 3′ 引物

[0744] gtgaatacgt acagggtcag acattataaa atcacaggtg gaatacattc ggtatctcct 60

[0745] tcatcc 66

[0746] SEQ ID NO.34

[0747] 表皮葡萄球菌信息素基因的 5’引物

[0748] gcgaataagt tctggggtat tgattccgtt tgtgcatcct atttttaaat aaaatataag 60

[0749] acaggc 66

[0750] SEQ ID NO.35

[0751] <表皮葡萄球菌信息素基因的 3’引物

[0752] gcctgtctta tattttattt aaaaatagga tgcacaaacg gaatcaatac cccagaactt 60

[0753] attcgc 66

[0754] SEQ ID NO.36

[0755] 大肠杆菌 Ia 变构多肽序列

[0756] Ser Asp Pro Val Arg Ile Thr Asn Pro Ala Ala Glu Ser Leu Gly Tyr

[0757] Asp Ser Asp Gly Arg Glu Ile Met Gly Val Asp Ile Tyr Leu Asn Pro

[0758] Pro Arg Val Asp Val Phe Lys Gly Thr Pro Pro Ala Trp Ser Ser Phe

[0759] Gly Asn Lys Thr Ile Trp Gly Gly Asn Glu Trp Val Asp Asp Ser Pro

[0760] Thr Arg Ser Asp Ile Glu Lys Arg Asp Lys Glu Ile Thr Ala Tyr Lys

[0761] Asn Thr Leu Ser Ala Gln Gln Lys Glu Asn Glu Asn Lys Arg Thr Glu

[0762] Ala Gly Lys Arg Leu Ser Ala Ala Ile Ala Ala Arg Glu Lys Asp Glu

[0763] Asn Thr Leu Lys Thr Leu Arg Ala Gly Asn Ala Asp Ala Ala Asp Ile

[0764] Thr Arg Gln Glu Phe Arg Leu Leu Gln Ala Glu Leu Arg Glu Tyr Gly

[0765] Phe Arg Thr Glu Ile Ala Gly Tyr Asp Ala Leu Arg Leu His Thr Glu

[0766] Ser Arg Met Leu Phe Ala Asp Ala Asp Ser Leu Arg Ile Ser Pro Arg

[0767] Glu Ala Arg Ser Leu Ile Glu Gln Ala Glu Lys Arg Gln Lys Asp Ala

[0768] Gln Asn Ala Asp Lys Lys Ala Ala Asp Met Leu Ala Glu Tyr Glu Arg

[0769] Arg Lys Gly Ile Leu Asp Thr Arg Leu Ser Glu Leu Glu Lys Asn Gly

[0770] Gly Ala Ala Leu Ala Val Leu Asp Ala Gln Gln Ala Arg Leu Leu Gly

[0771] Gln Gln Thr Arg Asn Asp Arg Ala Ile Ser Glu Ala Arg Asn Lys Leu

[0772] Ser Ser Val Thr Glu Ser Leu Asn Thr Ala Arg Asn Ala Leu Thr Arg

[0773] Ala Glu Gln Gln Leu Thr Gln Gln Lys Asn Thr Pro Asp Gly Lys Thr

[0774] Ile Val Ser Pro Glu Lys Phe Pro Gly Arg Ser Ser Thr Asn His Ser

[0775] Ile Val Val Ser Gly Asp Pro Arg Phe Ala Gly Thr Ile Lys Ile Thr

[0776] Thr Ser Ala Val Ile Asp Asn Arg Ala Asn Leu Asn Tyr Leu Leu Ser

[0777] His Ser Gly Leu Asp Tyr Lys Arg Asn Ile Leu Asn Asp Arg Asn Pro

[0778] Val Val Thr Glu Asp Val Glu Gly Asp Lys Lys Ile Tyr Asn Ala Glu

[0779] Val Ala Glu Trp Asp Lys Leu Arg Gln Arg Leu Leu Asp Ala Arg Asn

[0780] Lys Ile Thr Ser Ala Glu Ser Ala Val Asn Ser Ala Arg Asn Asn Leu

[0781] Ser Ala Arg Thr Asn Glu Gln Lys His Ala Asn Asp Ala Leu Asn Ala

[0782] Leu Leu Lys Glu Lys Glu Asn Ile Arg Asn Gln Leu Ser Gly Ile Asn

[0783] Gln Lys Ile Ala Glu Glu Lys Arg Lys Gln Asp Glu Leu Lys Ala Thr

[0784] Lys Asp Ala Ile Asn Phe Thr Thr Glu Phe Leu Lys Ser Val Ser Glu

[0785] Lys Tyr Gly Ala Lys Ala Glu Gln Leu Ala Arg Glu Met Ala Gly Gln

[0786] Ala Lys Gly Lys Lys Ile Arg Asn Val Glu Glu Ala Leu Lys Thr Tyr

[0787] Glu Lys Tyr Arg Ala Asp Ile Asn Lys Lys Ile Asn Ala Lys Asp Arg

[0788] Ala Ala Ile Ala Ala Ala Leu Glu Ser Val Lys Leu Ser Asp Ile Ser

[0789] Ser Asn Leu Asn Arg Phe Ser Arg Gly Leu Gly Tyr Ala Gly Lys Phe

[0790] Thr Ser Leu Ala Asp Trp Ile Thr Glu Phe Gly Lys Ala Val Arg Thr

[0791] Glu Asn Trp Arg Pro Leu Phe Val Lys Thr Glu Thr Ile Ile Ala Gly

[0792] Asn Ala Ala Thr Ala Leu Val Ala Leu Val Phe Ser Ile Leu Thr Gly

[0793] Ser Ala Leu Gly Ile Ile Gly Tyr Gly Leu Leu Met Ala Val Thr Gly

[0794] Ala Leu Ile Asp Glu Ser Leu Val Glu Lys Ala Asn Lys Phe Trp Gly

[0795] Ile

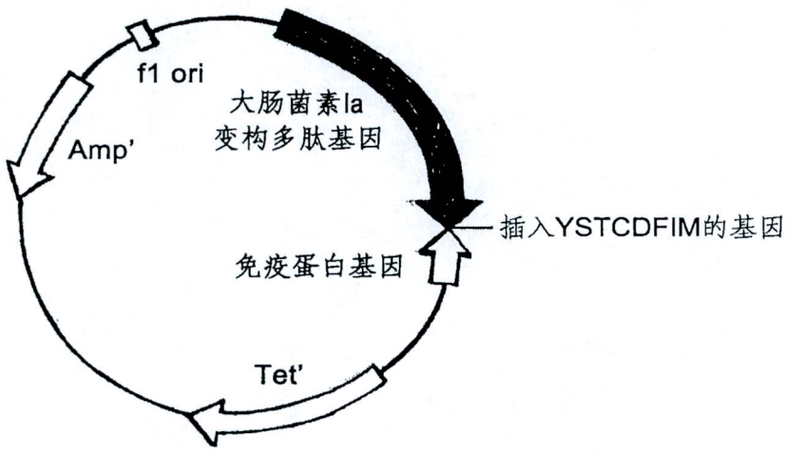

f1 ori
大肠菌素Ia
变构多肽基因
Amp'
插入YSTCDFIM的基因
免疫蛋白基因
Tet'

图 1

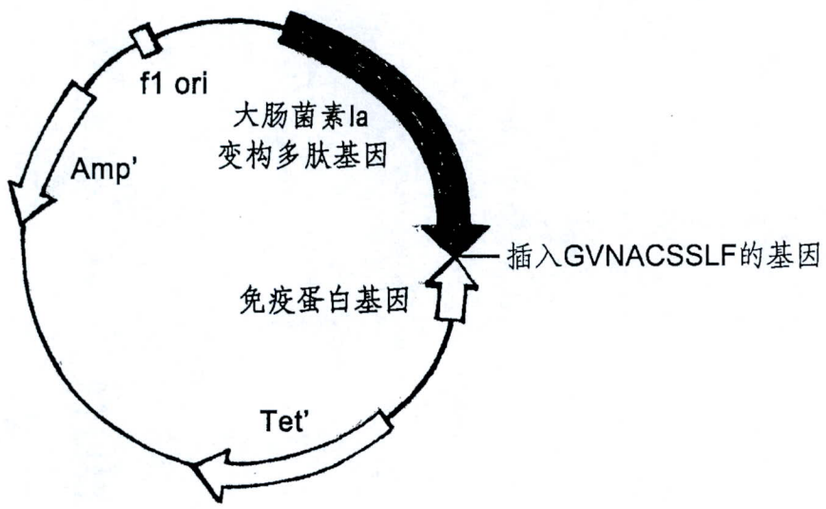

f1 ori
大肠菌素Ia
变构多肽基因
Amp'
插入GVNACSSLF的基因
免疫蛋白基因
Tet'

图 2

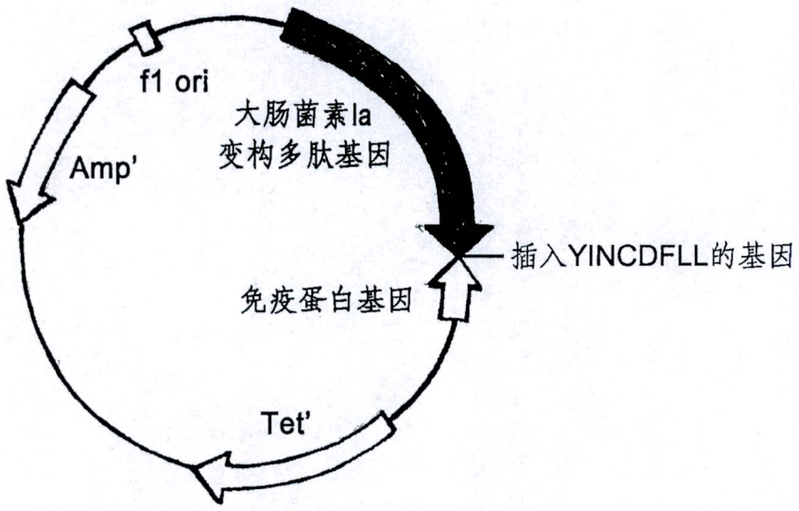

f1 ori
大肠菌素Ia
变构多肽基因
Amp'
插入YINCDFLL的基因
免疫蛋白基因
Tet'

图 3

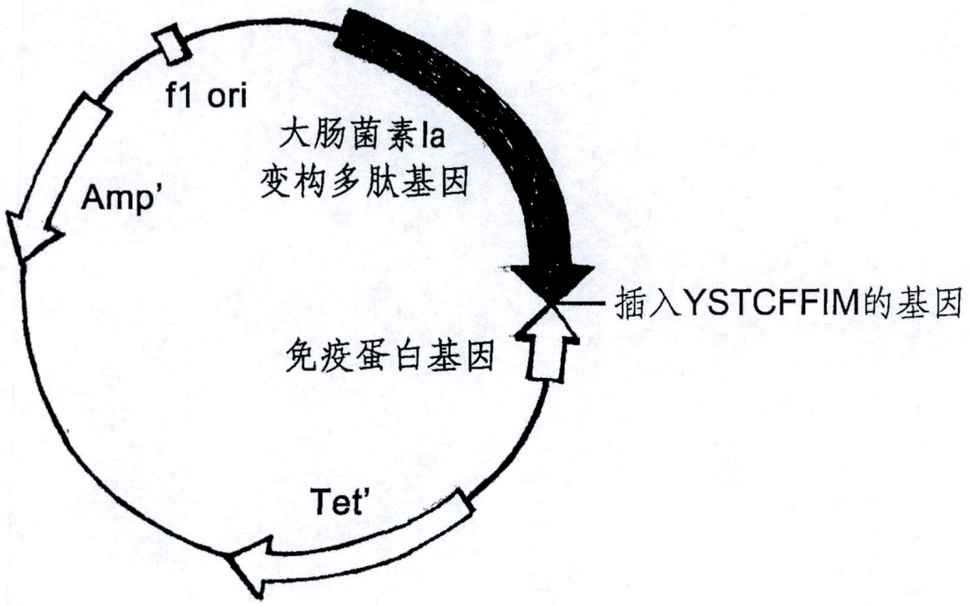

f1 ori
大肠菌素Ia
变构多肽基因
Amp'
插入YSTCFFIM的基因
免疫蛋白基因
Tet'

图 4

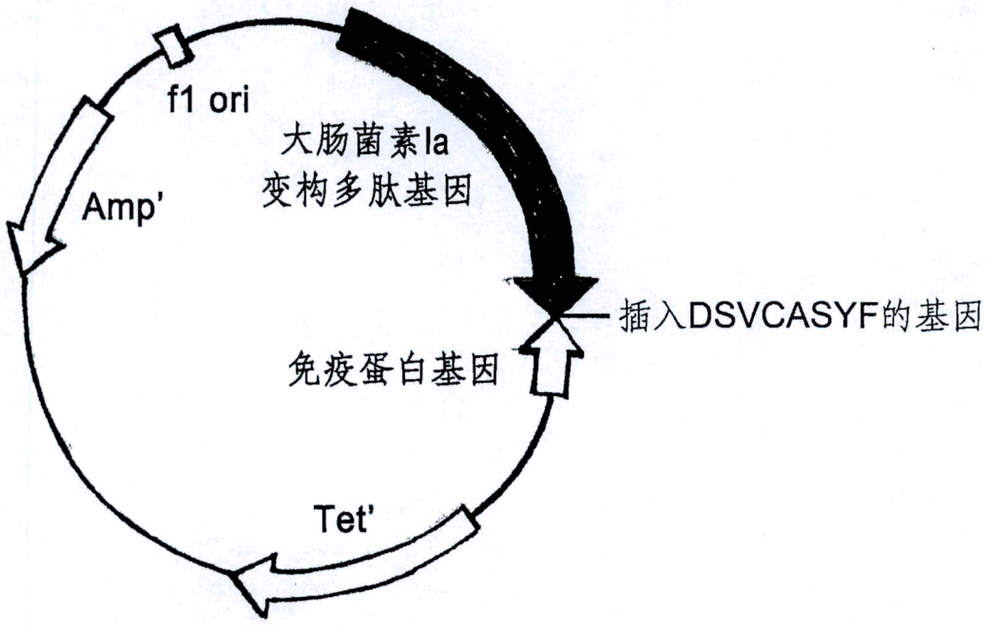

f1 ori
大肠菌素Ia
变构多肽基因
Amp'
插入DSVCASYF的基因
免疫蛋白基因
Tet'

图 5

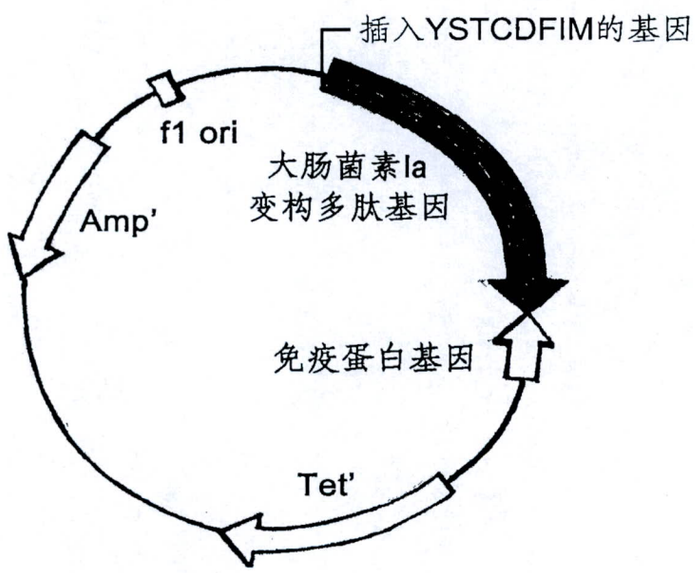

插入YSTCDFIM的基因
f1 ori
大肠菌素Ia
变构多肽基因
Amp'
免疫蛋白基因
Tet'

图 6

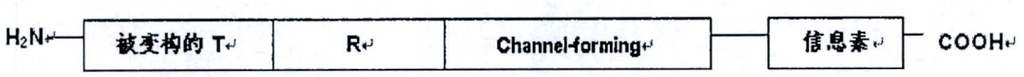

H2N
被变构的 T
R
Channel-forming
信息素
COOH

图 7

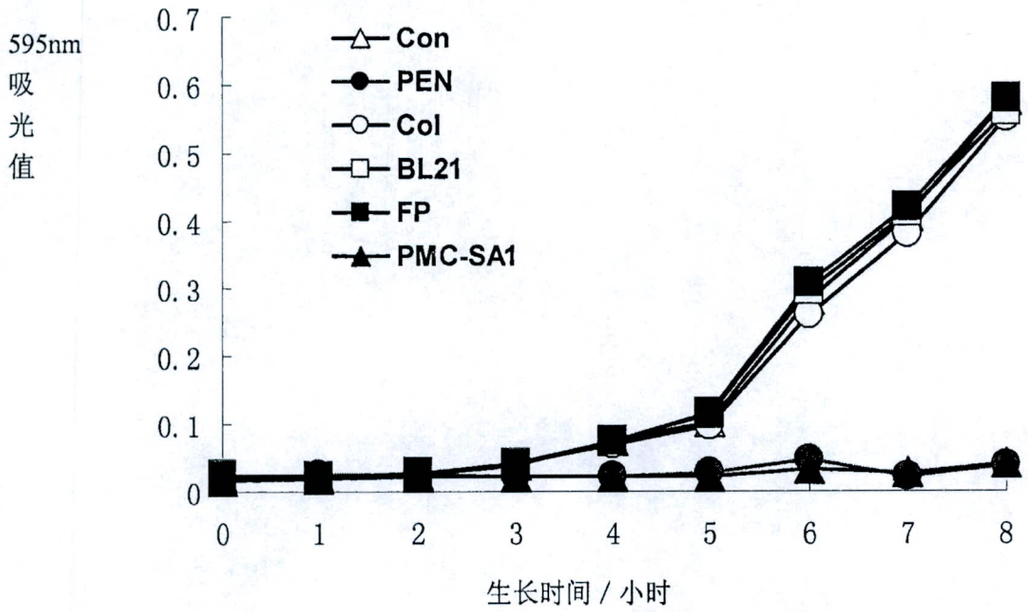

595nm
吸
光
值
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
Con
PEN
Col
BL21
FP
PMC-SA1
0
1
2
3
4
5
6
7
8
生长时间 / 小时

图 8

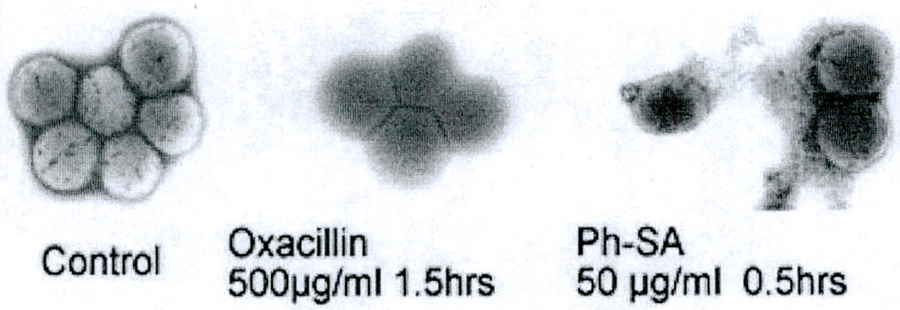

Control
Oxacillin
500μg/ml 1.5hrs
Ph-SA
50 μg/ml 0.5hrs

图 9

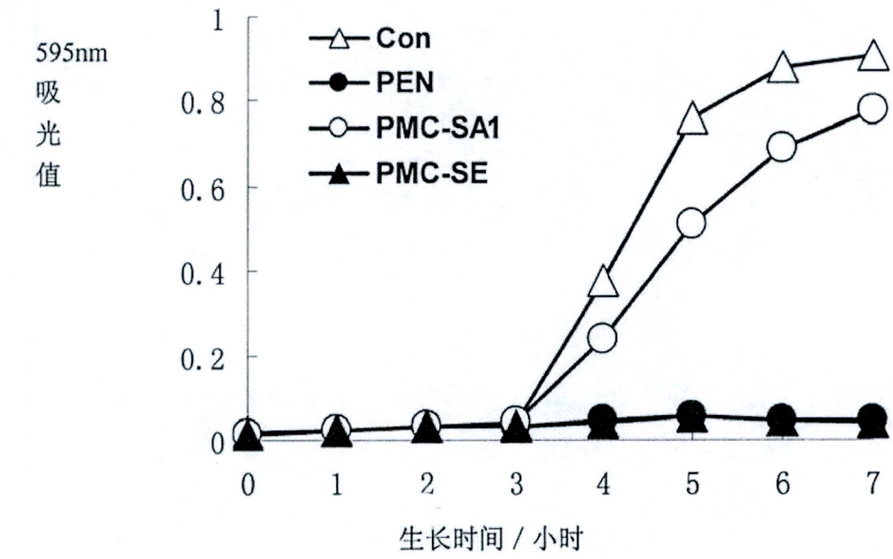

595nm
吸
光
值
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Con
PEN
PMC-SA1
PMC-SE
0
1
2
3
4
5
6
7
生长时间 / 小时

图 10

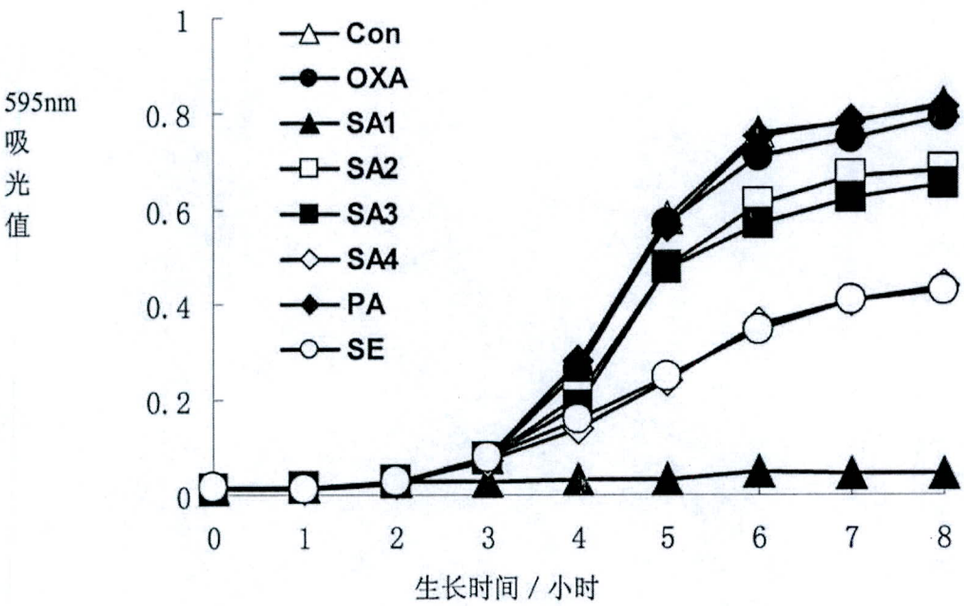

595nm
吸
光
值
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Con
OXA
SA1
SA2
SA3
SA4
PA
SE
0
1
2
3
4
5
6
7
8
生长时间 / 小时

图 11

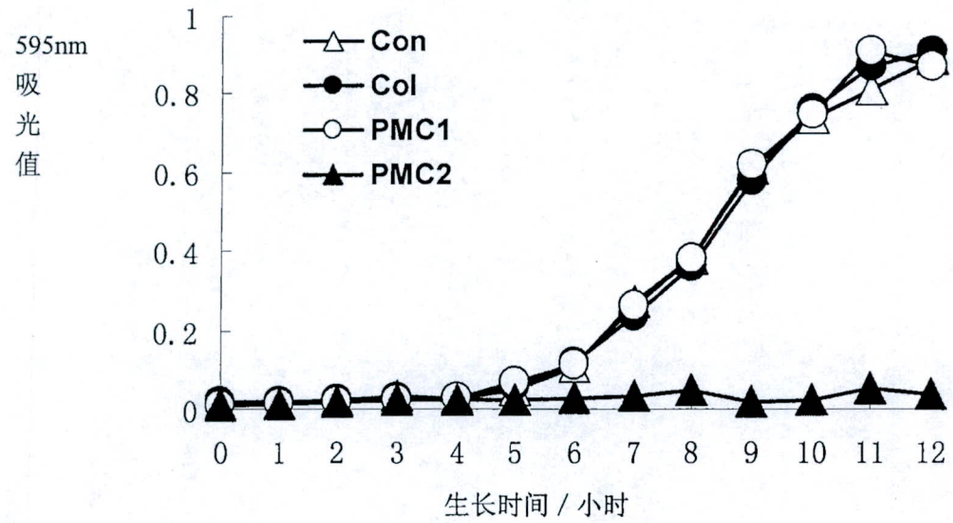

595nm
吸
光
值
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Con
Col
PMC1
PMC2
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
生长时间 / 小时

图 12

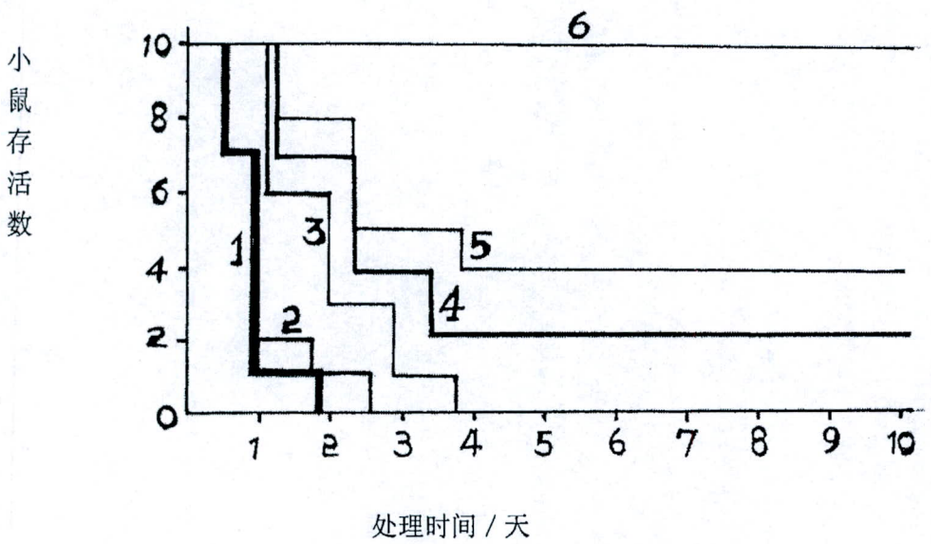

小
鼠
存
活
数
10
8
6
4
2
0
1
2
3
4
5
6
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
处理时间 / 天

图 13