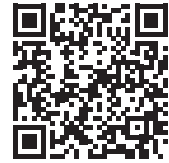


# 鸢尾素在大肠杆菌中的重组表达及纯化

崔铮琦<sup>1</sup>, 饶昕雨<sup>2</sup>, 张戈瑞<sup>2</sup>, 高子杨<sup>2</sup>, 王 龙<sup>2</sup>



1. 湖北科技学院医学部药学院 (湖北咸宁 437100)
2. 湖北科技学院医学部基础医学院 (湖北咸宁 437100)

**【摘要】目的** 在大肠杆菌中重组表达并纯化得到高产量、高纯度的鸢尾素 (Irisin) 重组蛋白, 为后续 Irisin 的功能研究奠定基础。**方法** 对 *Irisin* 基因 CDS 序列密码子优化后进行基因合成, 通过一步克隆连接法构建重组质粒 pET-30a-*Irisin*, 将其转化到大肠杆菌表达感受态细胞 Rosetta (DE3) 中。以终浓度为 0.5 mM 的 IPTG 在 15 °C、100 rpm 诱导表达 30 h。诱导表达结束后收集菌体, 超声波破碎细菌细胞, 离心取上清, 用 Ni-IDA 琼脂糖纯化树脂进行纯化。**结果** 成功构建得到重组质粒 pET-30a-*Irisin*, 重组表达菌株经低温、低浓度 IPTG 诱导, 经 Ni-IDA 琼脂糖纯化树脂纯化得到产量为 105 mg · L<sup>-1</sup> 的高纯度 Irisin 重组表达产物。**结论** 密码子和诱导条件优化可促进 Irisin 重组蛋白在大肠杆菌中的可溶性表达, 为研究其对不同肿瘤细胞的影响及机制奠定坚实基础。

**【关键词】** 鸢尾素; 大肠杆菌; 重组表达; 纯化

## Recombinant expression and purification of Irisin in *Escherichia coli*

CUI Zhengqi<sup>1</sup>, RAO Xinyu<sup>2</sup>, ZHANG Gerui<sup>2</sup>, GAO Ziyang<sup>2</sup>, WANG Long<sup>2</sup>

1. School of Pharmacy, Faculty of Medicine, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100, Hubei Province, China
2. School of Basic Medicine, Faculty of Medicine, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100, Hubei Province, China

Corresponding author: WANG Long, Email: wanglong@hbust.edu.cn

**【Abstract】Objective** To obtain high-yield and high-purity recombinant Irisin protein by recombinant expression and purification in *Escherichia coli*, and to lay a foundation for the subsequent study of Irisin function. **Methods** The CDS sequence of the *Irisin* gene was codon optimized for gene synthesis, and the recombinant plasmid pET-30a-*Irisin* was constructed by a one-step cloning and ligation method, and was transformed into *Escherichia coli* expression receptor cells Rosetta (DE3). The expression was induced by IPTG at a final concentration of 0.5 mM for 30 h at 15 °C and 100 rpm. The bacteria were collected at the end of induced expression, and the bacterial cells were broken by ultrasonic waves, the supernatant was obtained by centrifugation and purified by Ni-IDA agarose purification resin. **Results** The recombinant plasmid pET-30a-*Irisin* was successfully constructed, and the recombinant expression strain was induced by low temperature and low

concentration of IPTG, and the recombinant expression product of high-purity Irisin with a yield of 105 mg/L was obtained by purification with Ni-IDA agarose purification resin.

**Conclusion** The optimization of codon and induction can promote the soluble expression of Irisin recombinant protein in *Escherichia coli*, which lays a solid foundation for the study of its effects and mechanism on different tumor cells.

**【Keywords】** Irisin; *Escherichia coli*; Recombinant expression; Purification

鸢尾素 (Irisin) 是 Boström 等于 2012 年发现的一种新型肌肉因子, 由含 III 型纤连蛋白结构域蛋白 5 (fibronectin type III domain-containing protein 5, FNDC5) 水解产生<sup>[1]</sup>。Irisin 广泛分布于人体内, 主要参与白色脂肪组织的褐变、改善胰岛素抵抗、改善认知功能、调节骨代谢等<sup>[2]</sup>。Irisin 与多种肿瘤的发生发展密切相关, 能够通过多种信号通路促进或抑制肿瘤细胞增殖和迁移。朱英雪的研究发现, Irisin 可促进卵巢癌细胞增殖<sup>[3]</sup>, 也有研究证明其在胆管癌、胰腺癌中发挥抑制作用<sup>[4-5]</sup>, 因此可以作为一种有效的生物标志物来诊断多种类型的肿瘤<sup>[6-7]</sup>。然而, Irisin 在肿瘤发展过程中的分子机制尚未明确。何赛等在大肠杆菌表达系统中进行了 Irisin 的重组表达, 重组蛋白产量约为  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 并通过 Ni-IDA 琼脂糖纯化树脂得到了纯度较高的重组蛋白<sup>[8]</sup>, 但产量过低不利于研究其在肿瘤发展过程中的分子机制。本研究通过对 Irisin 基因进行密码子优化, 采用同源重组的方法在大肠杆菌表达感受态细胞 Rosetta (DE3) 中重组表达并纯化得到高产量、高纯度的 Irisin, 以期为后续研究 Irisin 对不同肿瘤细胞的影响及作用机制奠定基础。

## 1 资料与方法

### 1.1 实验菌株、质粒及主要试剂药品

大肠杆菌化学感受态细胞 DH5 $\alpha$ 、核酸染料 GelRed、蛋白质 Marker、DNA 聚合酶均购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司, DNA 胶回收试剂盒、质粒提取试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司, 限制性内切酶、DNA marker 购自赛默飞世尔科技公司, 一抗、二抗均购自爱博泰克生物科技有限公司, Ni-IDA 琼脂糖纯化树脂及实验中使用的其他生化试剂均购自生工生物 (上海) 股份有限公司, 大肠杆菌表达感受态细胞 Rosetta (DE3)、表达质粒 pET-30a 均为本实验室保藏。

### 1.2 重组表达载体的构建

根据 GenBank 中 *Irisin* 基因 CDS 序列 (NM\_001171940.2), 依照大肠杆菌密码子的偏好性, 在不改变氨基酸序列的前提下, 利用密码子优化软件 GeneOptimizer 对 *Irisin* 基因进行密码子优化后发送至北京擎科生物科技有限公司进行基因合成。用两侧带有 pET-30a 质粒 *EcoRV* 位点重组 linker 的引物 Irisin F ACGACAAGGCCATG GCTGATGACTCTCCTTCCGCTCCTGTT 和 Irisin R AGCTCGAATTCCGGATCCGATTTTCCTTCATAGTAA CTTCATCCTT 进行聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增, 得到 *Irisin* 基因片段。通过同源重组连接法将胶回收的 *Irisin* 基因片段连接到 pET-30a 质粒的 *EcoRV* 酶切位点, 将连接产物通过化学转化法转化到大肠杆菌的 DH5 $\alpha$  菌株中, 菌液复苏后涂布于含有  $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  卡那霉素的 LA 平板进行筛选, 挑取单菌落进行菌落 PCR 验证, 获得 DH5 $\alpha$ -pET30a-*Irisin* 重组菌株。以 S.TAG 引物 CGAACGCCAGCACATGGACA 和 T7 TER 引物 TGCTAGTTATTGCTCAGCGG 作为引物对进行 PCR 验证, pET-30a 空载做阴性对照模板, 按照 DNA 聚合酶 2  $\times$  Taq Master Mix (Dye Plus) 的使用说明书配置 PCR 反应体系, 前后引物各  $1 \mu\text{L}$ ,  $2 \times$  Tag Master Mix  $10 \mu\text{L}$ , ddH $_2\text{O}$   $7 \mu\text{L}$ , 体系中不加入模板, 在 EP 管中均匀混合, 以每管  $19 \mu\text{L}$  分装到 PCR 管中。在细菌超净台中用无菌牙签挑取 LA 转化平板上的单菌落, 在新的 LA 平板上点种并做好标记, 然后将带菌的牙签在 PCR 管反应液中涮动混合, 阴性对照以 pET-30a 空载质粒作为模板, 将 PCR 管放入设定好程序的 PCR 仪中进行扩增, 点种的 LA 平板放入  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  的细菌培养箱过夜培养。待 PCR 反应结束, 取出样品, 以  $1 \text{ kb}$  DNA Ladder Marker 作为标准进行琼脂糖凝胶电泳, 根据 Marker 初步判断重组转化子验证条带大小是否正确。挑取菌落 PCR 验证正确的转化子接种到含  $5 \text{ mL}$  LB 培养基的指形瓶中,  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ,

200 rpm 摇床培养 12 h, 提取质粒, 送至北京擎科生物科技有限公司进行测序分析, 测序正确的重组质粒命名 pET-30a-Irisin。

### 1.3 重组蛋白的诱导表达

将测序正确的重组质粒 pET-30a-Irisin 通过  $\text{CaCl}_2$  化学转化法转化到 Rosetta (DE3) 大肠杆菌表达感受态中, 在含有  $25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  卡那霉素和  $34 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  氯霉素的 LA 平板上,  $37^\circ\text{C}$  培养箱过夜。挑取大肠杆菌重组转化子接种到装 5 mL LB 培养基的指形瓶中,  $37^\circ\text{C}$ , 200 rpm 摇床培养 12 h 后获得种子液, 将其以 1% 的接种量接入含有 200 mL LB 培养基的锥形瓶中, 200 rpm、 $37^\circ\text{C}$  摇床培养 2~3 h, 待  $\text{OD}_{600}$  值达到 0.4~0.6, 在冰水混合物中预冷 30 min, 加入终浓度为 0.5 mM 的 IPTG,  $15^\circ\text{C}$ 、100 rpm, 摇床培养 30 h。

### 1.4 重组蛋白的纯化

诱导结束后,  $4^\circ\text{C}$ , 4 000 rpm, 离心 10 min, 收集菌体, 加入 25 mL 细胞裂解液, 涡旋使菌体重悬, 在冰水浴中超声 30 min 破碎细胞。 $4^\circ\text{C}$ , 12 000 rpm, 离心 10 min, 收集上清液。将上清液与平衡后的 Ni-IDA 琼脂糖纯化树脂填料充分混合, 依次向吸附柱中加入浓度为 80、100、250 mM 的咪唑缓冲液, 每次加入 2 mL, 让液体自然流下, 分别收集洗脱液。使用 BCA 蛋白质浓度测定试剂盒测定浓度, 加入终浓度 2 mM 的 PMSF 混匀后  $4^\circ\text{C}$  保存。

### 1.5 重组蛋白的分析

通过 SDS-PAGE 凝胶电泳和 Western-Blot 对重组蛋白进行分析。制备 SDS-PAGE 凝胶, 分离胶浓度为 12%, 浓缩胶浓度为 5%。取  $20 \mu\text{g}$  蛋白样品与  $5 \times$  Loading buffer 混合均匀,  $100^\circ\text{C}$  金属浴

煮 10 min, 12 000 rpm 离心 1 min 后, 取上清液进行电泳, 分析重组蛋白的表达和纯化情况。通过 Western-Blot 进一步验证重组蛋白, 取蛋白样品进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 随后转膜以及封闭。一抗  $4^\circ\text{C}$  冰箱摇床过夜, 次日加入二抗在室温摇床孵育 1 h, 最后显影分析 Irisin 在大肠杆菌中的表达情况。

## 2 结果

### 2.1 Irisin 基因 CDS 序列密码子优化及大肠杆菌重组表达载体的构建

Irisin 基因 CDS 序列密码子优化前后对比见图 1, 密码子中标注红色的碱基为优化后的碱基。经 EcoRV 单酶切后的 pET-30a 质粒和胶回收的 Irisin 目的基因进行琼脂糖凝胶电泳, 结果见图 2, 泳道 1 为 EcoRV 单酶切后的 pET-30a 质粒, 大小介于 5 000~6 000 bp, 与 pET-30a 理论大小 5 422 bp 相符合; 泳道 2 为胶回收后的 Irisin 目的基因, 大小介于 250~500 bp, 与 Irisin 基因片段的理论大小 376 bp 相符合。

### 2.2 重组转化子菌落 PCR 验证和测序

在含有卡那霉素的 LA 平板上挑选重组转化子单菌落进行菌落 PCR 验证, 见图 3, 泳道 1 为以 pET-30a 作为模板的阴性对照, 条带大小略低于 250 bp, 与理论大小 225 bp 相符合; 泳道 2~4 分别为不同重组转化子作为模板的 PCR 产物条带, 条带大小约为 500 bp, 与理论大小 624 bp 相符。部分测序结果见图 4, 表明 Irisin 基因已连接到 pET-30a 质粒 EcoRV 酶切位点, 且无碱基突变发生。

### 2.3 重组蛋白的表达和纯化分析

对大肠杆菌重组蛋白表达产物进行 SDS-

未优化的基因序列	优化后的基因序列
1 GAC AGT CCC TCA GCC CCA GTG AAC GTC ACC	1 GAC TCT CCT TCC GCT CCT GTT AAT GTT ACT
2 GTC AGG CAC CTC AAG GCC AAC TCT GCA GTG	2 GTT AGA CAT TTG AAG GCT AAC TCC GCT GTT
3 GTG AGC TGG GAT GTT CTG GAG GAT GAG GTT	3 GTT TCT TGG GAT GTT TTG GAG GAT GAA GTT
4 GTC ATC GGA TTT GCC ATC TCC CAG CAG AAG	4 GTT ATT GGT TTT GCT ATT TCT CAA CAA AAG
5 AAG GAT GTG CGG ATG CTG CGC TTC ATC CAG	5 AAG GAT GTT AGA ATG TTG AGA TTT ATC CAG
6 GAG GTG AAC ACC ACC ACC CGC TCA TGT GCC	6 GAA GTT AAC ACA ACT ACT AGA TCT TGT GCT
7 CTC TGG GAC CTG GAG GAG GAT ACG GAG TAC	7 TTG TGG GAT TTG GAG GAG GAT ACT GAG TAT
8 ATA GTC CAC GTG CAG GCC ATC TCC ATT CAG	8 ATT GTT CAT GTT CAG GCT ATT TCT ATC CAG
9 GGC CAG AGC CCA GCC AGC GAG CCT GTG CTC	9 GGT CAA TCC CCA GCT TCT GAG CCA GTT TTG
10 TTC AAG ACC CCG CGT GAG GCT GAG AAG ATG	10 TTT AAG ACT CCA AGA GAA GCT GAG AAG ATG
11 GCC TCC AAG AAC AAA GAT GAG GTA ACC ATG	11 GCT TCT AAG AAT AAG GAT GAA GTT ACT ATG
12 AAA GAG	12 AAG GAA

图1 Irisin 基因 CDS 序列密码子优化前后对比

Figure 1. Comparison of Irisin gene CDS sequence before and after codon optimization

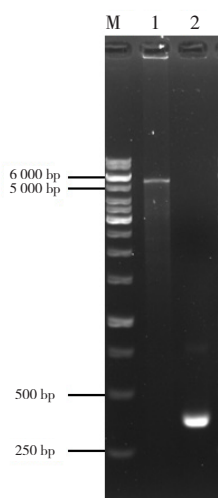


图2 重组质粒构建

Figure 2. Construction of recombinant plasmid

注：M. 1 kb DNA marker; 1. *EcoRV*单酶切后的pET-30a载体; 2. *Irisin*基因片段。

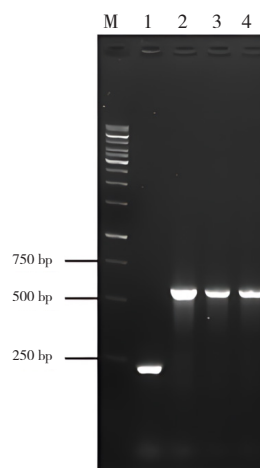


图3 重组转化子的菌落PCR验证

Figure 3. Colony PCR validation of recombinant transformants

注：M. 1 kb DNA marker; 1. pET-30a空载为模板的阴性对照PCR产物; 2~4. 不同重组转化子单菌落为模板的PCR产物。

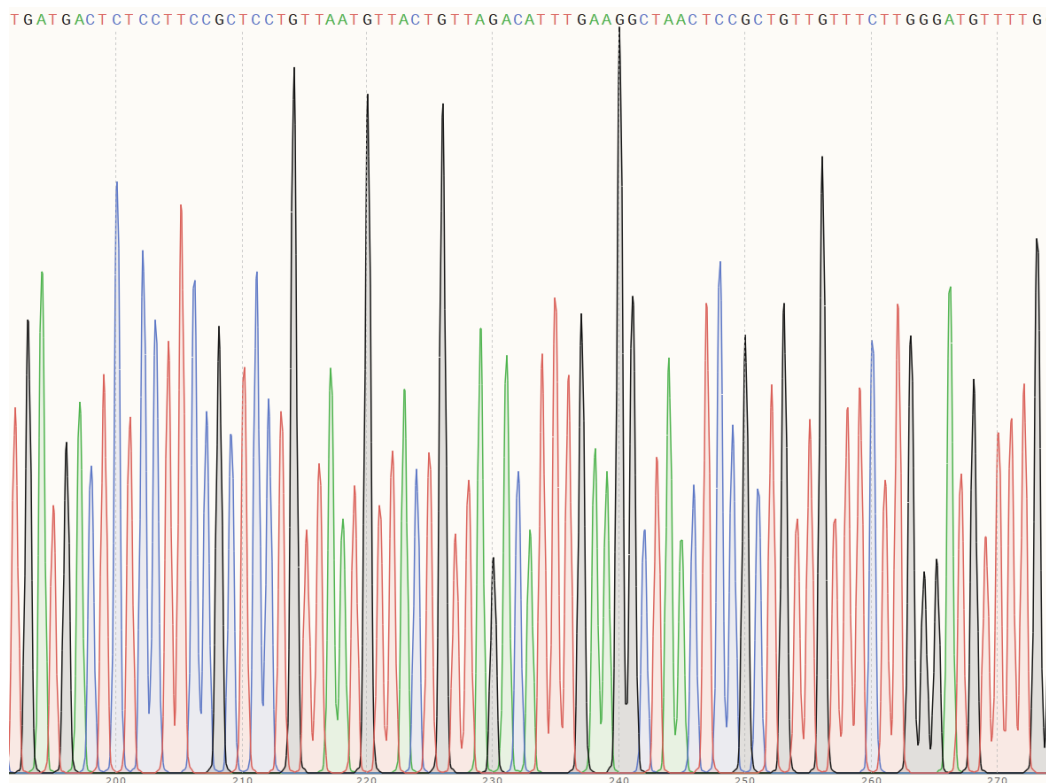


图4 pET-30a-Irisin部分测序峰图

Figure 4. Partial sequencing peaks of pET-30a-Irisin

PAGE 分析，如图 5 所示，泳道 1 为未加 IPTG 诱导的重组表达菌株裂解液上清，泳道 2 为经终浓度 0.5 mM IPTG 诱导的重组表达菌株裂解液上清，泳道 3 为 250 mM 咪唑缓冲液洗脱的 *Irisin* 重组蛋白。相较于泳道 1，泳道 2 在 10~15 kDa 有明显增粗的蛋白条带，初步表明

*Irisin* 重组蛋白已表达。对纯化产物进行 SDS-PAGE 分析，250 mM 咪唑缓冲液洗脱的 *Irisin* 重组蛋白呈现单一条带（如泳道 3），且与理论大小（约为 13 kDa）相符，表明经 Ni-IDA 琼脂糖纯化树脂纯化后可获得高纯度的 *Irisin* 重组蛋白，产量达 105 mg/L。

## 2.4 重组蛋白的Western-Blot鉴定

为进一步对 Irisin 重组蛋白进行验证, 取经 IPTG 诱导后的重组表达菌株裂解液上清进行 Western-Blot 鉴定 (泳道 1), 显影后从图 6 中可见杂交条带与理论大小条带 13 KDa 相符, 证明 Irisin 在大肠杆菌中表达成功。

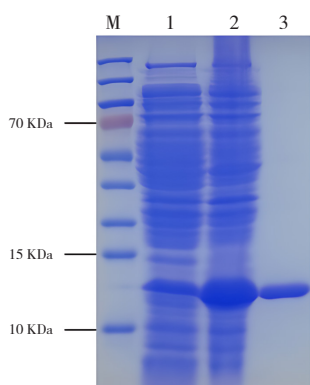


图5 重组蛋白的SDS-PAGE分析  
Figure 5. SDS-PAGE analysis of recombinant proteins

注: M. 蛋白相对分子质量标准; 1. 未加IPTG诱导的重组表达菌株裂解液上清; 2. 0.5 mM IPTG诱导的的重组表达菌株裂解液上清; 3. 250 mM咪唑缓冲液洗脱的Irisin重组蛋白。

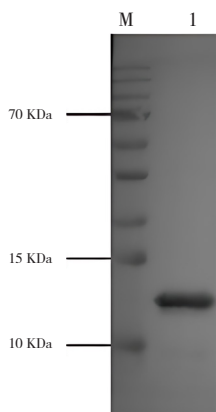


图6 重组蛋白的Western-Blot分析  
Figure 6. Western-Blot analysis of recombinant proteins

注: M. 蛋白相对分子质量标准; 1. 经IPTG诱导后的重组表达菌株裂解液上清。

## 3 讨论

全球每年新增癌症病例约 1 300 万, 现阶段我国癌症新增病例和死亡病例均位于全球前列<sup>[9-10]</sup>。研究发现, FNDC5/Irisin 能够促进肝癌细胞的增殖、侵袭和迁移, 并降低肝癌细胞对化疗药物的敏感性<sup>[11-13]</sup>。研究表明, Irisin 可显著促进宫颈癌 Hela 细胞的增殖、迁移及侵袭, 驱动细胞由 G1 期向 S

期转化, 促进细胞增殖<sup>[14]</sup>。Alsharqiti 等的研究发现, Irisin 对前列腺癌细胞增殖具有显著的抑制作用<sup>[15]</sup>。相似的结果在肺癌中也有相关报道, FNDC5/Irisin 能够抑制肺癌细胞的增殖和侵袭, 并通过磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) / 蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) / Snail 通路抑制上皮间质转化和减少肺癌细胞的侵袭<sup>[16]</sup>, 也有研究证明其对乳腺癌具有抑制作用<sup>[17]</sup>。上述研究表明 Irisin 与肿瘤的发生发展密切相关, 有望成为诊断肿瘤的辅助生物标记物。然而, 目前 Irisin 对不同肿瘤细胞的作用机制尚未明确。

何赛等首次实现了 Irisin 基因在大肠杆菌表达系统中的重组表达, 但可溶性 Irisin 重组表达产物的产量仅有  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 产量太低不利于进行后续机制研究<sup>[8]</sup>。本研究通过对 Irisin 基因进行密码子优化, 将使用频率低的密码子优化为使用频率高的密码子, 以提高蛋白质的翻译效率, 进而提高重组蛋白的表达量。在较高的诱导温度下, 大肠杆菌易形成包涵体, 降低诱导温度可使热休克蛋白的表达下降, 从而增加重组蛋白的稳定性和溶解度<sup>[18-19]</sup>。因此, 本研究用冰水混合物将  $\text{OD}_{600}$  值达到 0.4~0.6 的培养物预冷 30 min, 再加 0.5 mM IPTG, 15 °C 进行诱导, 以增加可溶性蛋白的产量。

本研究通过对 Irisin 基因进行密码子优化并采用一步克隆连接法, 构建得到重组质粒 pET-30a-Irisin, 将其转入大肠杆菌表达感受态细胞 Rosetta (DE3), 经 0.5 mM IPTG, 15 °C 诱导后, 获得产量为  $105 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的高纯度重组表达产物, 为后续研究 Irisin 对不同肿瘤细胞的影响及作用机制奠定基础。

## 参考文献

- Boström P, Wu J, Jegrychowski MP, et al. A PGC1- $\alpha$ -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis[J]. Nature, 2012, 481(7382): 463-468. DOI: 10.1038/nature10777.
- 林幼玉, 王清水, 林尧. FNDC5/Irisin 及其与肿瘤关系的研究进展 [J]. 福建轻纺, 2023(2): 21-24. [Lin YY, Wang QS, Lin Y. Progress in the study of FNDC5/Irisin and its relationship with tumors[J]. The Light & Textile Industries of Fujian, 2023(2): 21-24.] DOI: 10.3969/j.issn.1007-550X.2023.02.004.
- 朱英雪. 鸢尾素对上皮性卵巢癌细胞周期调控作用

- 的研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2020. [Zhu YX. The effect of Irisin on cell cycle in epithelial ovarian cancer cells[D]. Qingdao: Qingdao University, 2020.] DOI: [10.27262/d.cnki.gqdau.2019.001786](https://doi.org/10.27262/d.cnki.gqdau.2019.001786).
- 4 张德国, 谭雪莹, 黄飞, 等. 鸢尾素对胆管癌 Hucct-1 细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响[J]. 中华肝胆外科杂志, 2018, 24(10): 698-702. [Zhang DG, Tan XY, Huang F, et al. Effects of Irisin on proliferation, apoptosis, migration and invasion of human cholangiocarcinoma cell line Hucct-1[J]. Chinese Journal of Hepatobiliary Surgery, 2018, 24(10): 698-702.] DOI: [10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2018.10.010](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2018.10.010).
  - 5 Liu J, Song N, Huang Y, et al. Irisin inhibits pancreatic cancer cell growth via the AMPK-mTOR pathway[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 15247. DOI: [10.1038/s41598-018-33229-w](https://doi.org/10.1038/s41598-018-33229-w).
  - 6 Zhang D, Tan X, Tang N, et al. Review of research on the role of Irisin in tumors[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 4423-4430. DOI: [10.2147/OTT.S245178](https://doi.org/10.2147/OTT.S245178).
  - 7 Vliora M, Nintou E, Karligiotou E, et al. Implication of Irisin in different types of cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(17): 9971. DOI: [10.3390/ijms23179971](https://doi.org/10.3390/ijms23179971).
  - 8 何赛. 人 Irisin 重组蛋白的表达、分离纯化及活性鉴定[D]. 徐州: 中国矿业大学, 2017. [He S. Expression, purification and activity identification of human Irisin recombinant protein[D]. Xuzhou: China University of Mining and Technology, 2017.] <https://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10290-1016910170.htm>.
  - 9 Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249. DOI: [10.3322/caac.21660](https://doi.org/10.3322/caac.21660).
  - 10 Zheng RS, Zhang SW, Zeng HM, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2016[J]. J Natl Cancer Cent, 2022, 2(1): 1-9. DOI: [10.1016/j.jncc.2022.02.002](https://doi.org/10.1016/j.jncc.2022.02.002).
  - 11 Shi G, Tang N, Qiu J, et al. Irisin stimulates cell proliferation and invasion by targeting the PI3K/AKT pathway in human hepatocellular carcinoma[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 493(1): 585-591. DOI: [10.1016/j.bbrc.2017.08.148](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.08.148).
  - 12 肖怀腾. FNDC5/Irisin 在肝癌中的表达与肝癌侵袭进展的关系及机制的研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2022. [Xiao HT. The relationship between the expression of FNDC5/Irisin in liver cancer and the invasion and progression of liver cancer and its mechanism[D]. Qingdao: Qingdao University, 2022.] DOI: [10.27262/d.cnki.gqdau.2021.001160](https://doi.org/10.27262/d.cnki.gqdau.2021.001160).
  - 13 Gaggini M, Cabiati M, Del Turco S, et al. Increased FNDC5/Irisin expression in human hepatocellular carcinoma[J]. Peptides, 2017, 88: 62-66. DOI: [10.1016/j.peptides.2016.12.014](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2016.12.014).
  - 14 殷苏威. 鸢尾素对宫颈癌 Hela 细胞的生物学作用及机制研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2023. [Yin SW. Biological effects and mechanism of irisin on cervical cancer Hela cells[D]. Qingdao: Qingdao University, 2023.] DOI: [10.27262/d.cnki.gqdau.2022.001726](https://doi.org/10.27262/d.cnki.gqdau.2022.001726).
  - 15 Alshantiti KH, Alomar SF, Alzoman N, et al. Irisin induces apoptosis in metastatic prostate cancer cells and inhibits tumor growth in vivo[J]. Cancers (Basel), 2023, 15(15): 4000. DOI: [10.3390/cancers15154000](https://doi.org/10.3390/cancers15154000).
  - 16 Nowinska K, Jablonska K, Pawelczyk K, et al. Expression of Irisin/FNDC5 in cancer cells and stromal fibroblasts of non-small cell lung cancer[J]. Cancers (Basel), 2019, 11(10): 1538. DOI: [10.3390/cancers11101538](https://doi.org/10.3390/cancers11101538).
  - 17 Cebulski K, Piotrowska A, Kmiecik A, et al. The role of Irisin/FNDC5 expression and its serum level in breast cancer[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(10): 8628. DOI: [10.3390/ijms24108628](https://doi.org/10.3390/ijms24108628).
  - 18 刘利萍. MTB Hsp16.3 重组蛋白构建及通过 CX3CR1 调控巨噬细胞 M2 型极化的作用机制研究[D]. 遵义: 遵义医科大学, 2023. [Liu LP. Construction of MTB Hsp16.3 recombinant protein and its mechanism of regulating macrophage M2-type polarization[D]. Zunyi: Zunyi Medical University, 2023.] DOI: [10.27680/d.cnki.gzyyc.2022.000117](https://doi.org/10.27680/d.cnki.gzyyc.2022.000117).
  - 19 Valdez-Cruz NA, Trujillo-Roldán MA. Thermostable E. coli for recombinant protein production in inclusion bodies[J]. Methods Mol Biol, 2023, 2617: 17-30. DOI: [10.1007/978-1-0716-2930-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2930-7_2).

收稿日期: 2024 年 04 月 20 日 修回日期: 2024 年 05 月 28 日  
本文编辑: 张苗 黄笛

引用本文: 崔铮琦, 饶昕雨, 张戈瑞, 等. 鸢尾素在大肠杆菌中的重组表达及纯化[J]. 数理医药学杂志, 2024, 37(6): 412-417. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202404124](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202404124).  
Cui ZQ, Rao XY, Zhang GR, et al. Recombinant expression and purification of Irisin in *Escherichia coli*[J]. Journal of Mathematical Medicine, 2024, 37(6): 412-417. DOI: [10.12173/j.issn.1004-4337.202404124](https://doi.org/10.12173/j.issn.1004-4337.202404124).