

兽医

大肠杆菌外排泵系统基因表达及ELISA检测方法建立

吕殿红, 蒋红霞, 曾振灵, 陈杖榴

华南农业大学兽医学院

收稿日期 2007-8-27 修回日期 网络版发布日期 2008-12-10 接受日期 2008-12-26

摘要

【目的】对大肠杆菌AcrAB外排泵系统acrA、acrB基因进行原核表达,获得的表达产物AcrA、AcrB蛋白分别免疫兔,制备相应的抗体,建立大肠杆菌外排泵表达水平的ELISA检测方法。**【方法】**扩增AcrAB外排泵系统acrA、acrB基因片段,扩增片段分别与原核表达载体 pET-41a(+)连接构建重组质粒,于BL21(DE3)中进行诱导表达。表达产物AcrA、AcrB纯化后分别免疫新西兰大白兔,获得抗AcrA、AcrB抗血清,并用Western blot方法对表达产物进行鉴定分析。纯化的AcrA、AcrB蛋白分别按不同的浓度包被酶标板,与不同稀释倍数的抗血清反应,通过ELISA检测确定最佳抗原包被浓度及抗体稀释度,初步建立大肠杆菌外排泵表达水平的ELISA检测方法。**【结果】**成功克隆和表达了acrA、acrB基因片段,经SDS-PAGE检测表明两种表达产物AcrA、AcrB均以可溶性蛋白形式存在。AcrA、AcrB抗原蛋白最佳包被浓度分别为 $1.0\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 和 $0.5\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$,抗AcrA、AcrB血清的最佳稀释度分别为1:800和1:400。用初步建立的ELISA方法检测8株大肠杆菌多重耐药菌株外排泵表达水平,结果表明分别用两种蛋白作包被抗体检测外排泵表达水平的结果一致。**【结论】**本研究通过原核表达的方法获得大肠杆菌AcrAB外排泵系统AcrA、AcrB蛋白并制备了相应的抗体,分别用两种抗体包被酶标板,并建立了大肠杆菌外排泵表达水平的ELISA检测方法,对8株多重耐药菌株的检测结果表明该方法可行、可靠。

关键词 [大肠杆菌](#) [外排泵](#) [原核表达](#) [抗体](#) [ELISA方法](#)

分类号

DOI:

通讯作者:

曾振灵 zlzeng@scau.edu.cn

作者个人主页:

吕殿红;蒋红霞;曾振灵;陈杖榴

扩展功能

本文信息

▶ [Supporting info](#)

▶ [PDF\(398KB\)](#)

▶ [\[HTML全文\]\(OKB\)](#)

▶ [参考文献\[PDF\]](#)

▶ [参考文献](#)

服务与反馈

▶ [把本文推荐给朋友](#)

▶ [加入我的书架](#)

▶ [加入引用管理器](#)

▶ [引用本文](#)

▶ [Email Alert](#)

▶ [文章反馈](#)

▶ [浏览反馈信息](#)

相关信息

▶ [本刊中包含“大肠杆菌”的相关文章](#)

▶ 本文作者相关文章

· [吕殿红, 蒋红霞, 曾振灵, 陈杖榴](#)