

畜牧·兽医·资源昆虫

应用重组抗原建立检测牛传染性胸膜肺炎的间接ELISA方法

辛九庆,高玉龙,李媛,王砚范,钱爱东

中国农业科学院哈尔滨兽医研究所

收稿日期 2005-1-30 修回日期 网络版发布日期 接受日期

摘要 【目的】丝状支原体丝状亚种SC (*Mycoplasma mycoides subsp mycoides* SC, MmmSC) 是引起牛传染性胸膜肺炎 (contagious bovine pleuropneumonia, CBPP) 的病原体。成熟的脂蛋白LppQ N端是亲水性的, 在自然感染和人工感染时, 特异性免疫反应产生早, 持续时间长, 抗体滴度高, 因此有理由相信脂蛋白LppQ N端片段将有可能成为一种理想的CBPP诊断抗原。【方法】由于TGA密码子在支原体中编码色氨酸 (Trp), 而在细菌中则为终止密码子, 故利用一步重叠延伸PCR突变方法体外诱变中国生产抗原毒株HVRI X的lppQ基因进行原核表达, 利用重组抗原建立间接ELISA方法。【结果】序列分析表明, 将lppQ基因第198位的A成功突变为G, 并将突变后的脂蛋白LppQ N端基因片段插入原核表达载体pET32a的多克隆位点, 构建了原核表达载体。重组菌经诱导后, 表达出了分子量约为42 kD、带有6个组氨酸标签的重组融合蛋白, 纯化后蛋白质纯度高达95%, Western blot结果显示, 重组蛋白具有很好的免疫活性。将纯化的蛋白质稀释至 $0.35 \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$, 包被酶标反应板, 优化反应条件, P/N为4.8 (0.934/0.193)。应用TG-ROC统计软件分析确定阴性血清临界OD值为0.376, 敏感性为95.8% (46/48), 特异性为98.9% (161/163)。应用间接ELISA和补体结合试验 (CFT) 对来自3个省自治区3 817头份牛血清进行了检测。【结论】Kappa值为0.63, 两种方法存在中、高度一致性。

关键词 [牛,牛传染性胸膜肺炎,脂蛋白LppQ,突变,ELISA](#)

分类号

DOI:

通讯作者:

辛九庆 辛九庆 xinjiuqing2001@sohu.com

作者个人主页: 辛九庆;高玉龙;李媛;王砚范;钱爱东

扩展功能

本文信息

- ▶ [Supporting info](#)
- ▶ [PDF \(403KB\)](#)
- ▶ [\[HTML全文\] \(0KB\)](#)
- ▶ [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“牛,牛传染性胸膜肺炎,脂蛋白LppQ,突变,ELISA”的相关文章](#)

▶ 本文作者相关文章

- [辛九庆](#)
- [高玉龙](#)
- [李媛](#)
- [王砚范](#)
- [钱爱东](#)