

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 g·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](#)