

## 论文

### 多响应曲面优化-毛细管电泳-激光诱导荧光快速检测食源性致病菌

渠凌丽, 黎源倩, 郑波, 何成艳, 何玲, 李永新

四川大学华西公共卫生学院卫生检验教研室, 成都 610041

#### 摘要:

建立了食品中常见致病菌: 沙门菌的*invA*基因、大肠杆菌O157:H7的*rfbO157*基因、志贺菌的*ipaH*基因及副溶血性弧菌*Vpara*(16S-23S rDNA IGS)基因的多重PCR产物-毛细管电泳快速检测方法. 根据沙门菌、大肠杆菌O157:H7、志贺菌及副溶血性弧菌的特异性基因保守序列设计出多重PCR引物, 优化PCR 扩增反应体系. 采用多响应曲面法优化毛细管电泳的分离条件, 以含有DNA荧光染料SYBR Green I的1.0%甲基纤维素为筛分介质, 通过毛细管电泳-激光诱导荧光同时检测4种常见致病菌的PCR 扩增产物. 在优化的多重PCR反应体系和毛细管筛分电泳条件下, 此方法可以同时检测出沙门菌的*invA*基因、大肠杆菌O157:H7的*rfbO157*基因、志贺菌的*ipaH*基因及副溶血性弧菌*Vpara*(16S-23S rDNA IGS)基因的多重PCR扩增产物, 25 min内即可完成检测. 迁移时间的日内相对标准偏差为0.92%~1.58%. 通过多响应曲面的优化, 有效改善了毛细管电泳对DNA分子的分离能力.

关键词: 多响应曲面优化 毛细管电泳 激光诱导荧光检测 食源性致病菌 多重PCR

### Simultaneous Multi-response Optimization and Capillary Electrophoresis with Laser Induced Fluorescence Detector for Rapid Detection of Foodborne Pathogenic Bacteria

QU Ling-Li, LI Yuan-Qian\*, ZHENG Bo, HE Cheng-Yan, HE Ling, LI Yong-Xin

School of West China Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China

#### Abstract:

A rapid, sensitive and reliable method for monitoring foodborne pathogenic bacteria by multiplex PCR-capillary electrophoresis with laser induced fluorescence detector was developed. Four sets of primers were designed to simultaneously amplify the gene segments of *invA* gene in *salmonella*, *rfbO157* gene in *E.coli*.O157:H7, *ipaH* gene in *Shigella* and *Vpara*(16S—23S rDNA IGS) gene in *Vibrio parahemolyticus* and the multiplex PCR system was optimized. The separation conditions of capillary electrophoresis were optimized by central composite design(CCD) and simultaneous multiresponse optimization. The method was applied to the rapid detection of above PCR products by a capillary coated with linear polyacrylamide and 1.0%MC-4000 sieving buffer with SYBR Green I as DNA fluorescent dyes under a separation voltage of 5.2 kV. The proposed method was able to simultaneously detect the PCR products of the above four genes under the optimization conditions of PCR reaction and capillary electrophoresis within 25 min. The within-day precisions of migration time were 0.92%—1.58%. Compared with agarose gels electrophoresis, the proposed method is rapid, sensitive and accurate.

Keywords: Multi-response optimization Capillary electrophoresis Laser-induced fluorescence detection Foodborne pathogenic bacteria Multiplex polymerase chain reaction

收稿日期 2008-06-18 修回日期 网络版发布日期

DOI:

基金项目:

国家自然科学基金(批准号: 30571622)和国家博士学科点基金(批准号: 20030610029)资助.

通讯作者: 黎源倩, 女, 教授, 博士生导师, 主要从事卫生检验学和仪器分析研究. E-mail:

liyuanqian46@163.com

作者简介:

参考文献:

扩展功能

本文信息

Supporting info

PDF (585KB)

[HTML全文]

[\({article.html\\_WenJianDaXiao} KB\)](#)

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

本文关键词相关文章

▶多响应曲面优化

▶毛细管电泳

▶激光诱导荧光检测

▶食源性致病菌

▶多重PCR

本文作者相关文章

PubMed

- [1]Musher D. M., Musher B. L.. New Engl. J. Med.[J], 2004, 351: 2417—2427
- [2]Marek J., Jacek S., Ewa K., *et al.*. Anal. Bioanal. Chem.[J], 2008, 391: 2153—2160
- [3]Gao P., Xu G., Shi X., *et al.*. Electrophoresis[J], 2006, 27: 1784—1789
- [4]Kourkine I. V., Ristic-Petrovic M., Davis E., *et al.*. Electrophoresis[J], 2003, 24: 655—661
- [5]Alarcon B., Garcia-Canas V., Cifuentes A., *et al.*. J. Agric. Food Chem.[J], 2004, 52: 7180—7186
- [6]Smole S., Swaminathan B., Ribot E.. Foodborne Path. Dis.[J], 2006, 3: 118—131
- [7]Rossella B., Claudia G.. Qual. Reliab. Engng. Int.[J], 2006, 22: 517—526
- [8]David A., Cruz O., Luis A. S.. J. Chromatogr. A[J], 1157(1—2): 358—368
- [9]ZHOU Ying(周颖), LI Yuan-Qian(黎源倩), PEI Xiao-Fang(裴晓方). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2007, 28(8): 1458—1463
- [10]MAO Hong-Xia(毛红霞), LI Yuan-Qian(黎源倩), PEI Xiao-Fang(裴晓方), *et al.*. Chin. J. Chromatogr.(色谱)[J], 2007, 25(4): 473—475
- [11]FAN Hong-Ying(范宏英), WU Qing-Ping(吴清平), WU Ruo-Jing(吴若菁), *et al.*. Microbiology(微生物学通报)[J], 2005, 32(3): 102—107
- [12]Bilge S. S., Vary J. C., Dowell S. F., *et al.*. Infect. Immun.[J], 1996, 64: 4795—4801
- [13]LIU Jin-Hua(刘金华), YIN Xue-Feng(殷学锋), TANG Juan-Juan(唐娟娟). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2004, 25(2): 270—272
- [14]Kong R. Y. C., Lee S. K. Y., Law T. W. F., *et al.*. Water Res.[J], 2002, 36: 2802—2812
- [15]Boyd E. F., Li J., Ochman H., *et al.*. J. Bacteriol.[J], 1997, 179(6): 1985—1991
- [16]DENG Xian-Yu(邓先余), WANG Zhi-Xue(王智学), CHEN Xiao-Yan(陈晓艳), *et al.*. Oceanologia Et Limnologia Sinica(海洋与湖沼)[J], 2007, 38(6): 555—562
- [17]HE Chao(何超), FAN Xue-Jun(樊学军), WANG Dong-Li(汪东篱), *et al.*. J. Hygiene Res.(卫生研究)[J], 2005, 34: 721—723
- [18]Li Y., Zhuang S., Mustapha A., Meat Sci.[J], 2005, 71: 402—406
- [19]Luciana V. C., Olivieri A. C., Goicoechea H. C.. Anal. Chim. Acta[J], 2007, 595(1/2): 310—318
- [20]Zhou Y., Jiang Q.W., Peng Q., *et al.*. Chemosphere[J], 2007, 70: 256—262
- [21]Alarcon B., Garcia-Canas V., Cifuentes A., *et al.*. J. Agric. Food Chem.[J], 2004, 52: 7180—7186

本刊中的类似文章

- 赵燕燕,王丽娟,李月秋,韩媛媛,杜光玲. 胶束毛细管电泳在线推扫技术分离检测猪肉组织中痕量喹诺酮类药物[J]. 高等学校化学学报, 2007,28(1): 62-64
- 凌笑梅,刘一,赖先银,张媛,刘晓明,屠鹏飞,赵玉英,崔景荣. 采用毛细管电泳方法以凝血酶为靶筛选天然药物提取化合物[J]. 高等学校化学学报, 2007,28(2): 234-237
- 林伟丰,吴小林,陈缙光,李全文,蔡沛祥,莫金垣. 毛细管电泳高频电导法测定几种中药中的丁香酚[J]. 高等学校化学学报, 2006,27(11): 2070-2072
- 唐吉军,谢剑炜,邵宁生,郭磊,闫妍. 采用毛细管电泳技术筛选特异识别蓖麻毒素适配子的研究[J]. 高等学校化学学报, 2006,27(10): 1840-1843
- 董志强,夏之宁,蒋雪梅. 化合物疏水参数测定的脂质体毛细管电泳方法[J]. 高等学校化学学报, 2007,28(7): 1273-
- 周颖,黎源倩,裴晓方. 转基因玉米的多重PCR-毛细管电泳-激光诱导荧光检测方法研究[J]. 高等学校化学学报, 2007,28(8): 1458-1463
- 左敏,陈义. 利用泰勒分析和动态涂层毛细管电泳系统快速测定蛋白质的扩散系数[J]. 高等学校化学学报, 2007,28(10): 1875-1877
- 刘彦明,曹俊涛,郑艳丽. 毛细管电泳间接电致化学发光灵敏检测去甲肾上腺素及其在尿样分析中的应用[J]. 高等学校化学学报, 2008,29(1): 81-82
- 张黎伟,张新祥. 亲和毛细管电泳法和荧光法研究氟喹诺酮类药物与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 高等学校化学学报, 2008,29(4): 694-699
- 刘彦明;穆海贝;王成全;陈永红;李福荣;王军华;程介克. 毛细管电泳免疫化学发光高灵敏检测人血清中肿瘤标志物甲胎蛋白[J]. 高等学校化学学报, 2006,27(7): 1242-1244
- 刘彦明,田伟. 毛细管电泳电致化学发光灵敏检测毒品类生物碱及在尿样分析中的应用[J]. 高等学校化学学报, 2009,30(1): 51-53
- 孔宇,赵永席,王波. 毛细管电泳乙腈-盐在线堆积方法机理研究[J]. 高等学校化学学报, 2006,27(5): 834-838

文章评论

序号	时间	反馈人	邮箱	标题
----	----	-----	----	----

META http charset=

Rememb  
crochet

