

微生物学报

ACTA MICROBIOLOGICA SINICA



期刊介绍

投稿须知

编委会

学科先贤

下载专区

常见问题

广告服务

友情链接

炭疽芽胞杆菌Bs1A(260-652)蛋白的表达纯化与黏附功能鉴定

Recombinant expression, purification and adhesion function identify of Bacillus anthracis Bs1A(260-652) protein

最后修改时间: 2012-1-5

中文关键词: [关键词: 炭疽芽胞杆菌, Bs1A 蛋白, 多克隆抗体, 免疫荧光, 黏附](#)

英文关键词: [Keywords: Bacillus anthracis Bs1A protein polyclonal antibody immunofluorescence adhesion](#)

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2008BAI66B03); 国家艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治重大专项(2008ZX10004-015)

作者	单位	E-mail
马坤	安徽大学生命科学学院, 合肥230039	E-mail:liucj@nic.bmi.ac.cn
王艳春	军事医学科学院生物工程研究所, 病原微生物与生物安全国家重点实验室, 北京100071	
陶好霞	军事医学科学院生物工程研究所, 病原微生物与生物安全国家重点实验室, 北京100071	
董杰	军事医学科学院生物工程研究所, 病原微生物与生物安全国家重点实验室, 北京100071	
曹诚	军事医学科学院生物工程研究所, 病原微生物与生物安全国家重点实验室, 北京100071	
张部昌	安徽大学生命科学学院, 合肥230039	
刘纯杰	军事医学科学院生物工程研究所, 病原微生物与生物安全国家重点实验室, 北京100071	

摘要点击次数: 73

全文下载次数: 26

中文摘要:

摘要: 【目的】克隆表达炭疽芽胞杆菌Bs1A 的功能区片段并对其生物学功能进行鉴定。【方法】以炭疽芽胞杆菌A16R 基因组DNA 为模板PCR扩增bs1A(260-652)基因片段, 克隆至pET-28a(+)载体。将成功构建的重组质粒转化入大肠杆菌Rosetta (DE3)中, 诱导表达后收集菌体经超声破碎后, 对可溶表达部分用镍柱进行亲和层析纯化。以纯化后的蛋白为抗原, 免疫BALB/c小鼠制备该蛋白的多抗, 用ELISA和Western blot检测抗血清; 使用间接免疫荧光实验和细菌黏附实验研究目标蛋白及其抗体的生物学功能。【结果】Bs1A(260-652)获得了可溶性表达, 纯化后纯度约为87.4%。以纯化蛋白为抗原, 免疫BALB/c小鼠制备的抗血清ELISA效价可达1:20000。将Bs1A(260-652)蛋白与Hela 细胞共孵育后, 能够直接和Hela的细胞膜结合。细菌黏附实验表明Bs1A(260-652)蛋白及其相应的多抗血清都能够显著地抑制炭疽芽胞杆菌A16R 对Hela细胞的黏附。【结论】大肠杆菌表达得到的炭疽芽胞杆菌Bs1A(260-652)蛋白具有与天然蛋白相似的生物活性, 为深入研究Bs1A 蛋白在炭疽芽胞杆菌致病过程中的作用奠定实验基础。

英文摘要:

Abstract: [Objective] To obtain the recombinant Bs1A(260-652) protein of Bacillus anthracis and prepare its antibody for the adhesion activity studies. [Methods] The fragment coding Bs1A(260-652) was cloned into pET28a(+) plasmid and induced to express recombinant protein in E. coli Rosetta (DE3) by Isopropyl β-D-1-thiogalactopyranoside (IPTG). The expressed recombinant soluble protein was purified by a column packed with Ni Resin. Purified protein was used as the antigen to immunize BABL/c mice for three times to raise polyclonal antibody. The adhesion activity of Bs1A(260-652) was detected by immunofluorescence experiments and bacterial adherence assays. [Results] The purity of the purified soluble Bs1A(260-652) was about 87.4%. ELISA assay titer of antiserum from vaccinated mice reached 1:20000. Western blot showed the antiserum could specifically recognize endogenous Bs1A protein. The purified Bs1A(260-652) displayed a typical adhesion-like function. Either the anti-Bs1A serum or the Bs1A(260-652) protein could inhibit A16R's Hela adherence. [Conclusion] The recombinant Bs1A(260-652) protein was successfully obtained, which would lay the foundation for further research of the anthrax vaccine and the role of this S-layer protein in the pathogenesis of anthrax.

马坤, 王艳春, 陶好霞, 董杰, 曹诚, 张部昌, 刘纯杰. 炭疽芽胞杆菌Bs1A(260-652)蛋白的表达纯化与黏附功能鉴定. 微生物学报, 2012, 52(3): 360-366

地址：北京朝阳区北辰西路1号院3号中科院微生物所内 邮编：100101
收信(款)人：《微生物学报》编辑部
电话：010-64807516 传真：010-64807327 电子信箱：actamicro@im.ac.cn

本刊全文数据库版权所有，未经许可，转载、链接及印刷或制作光盘都属违法，本刊将保留追究法律责任的权利