

植物保护

柑橘溃疡病菌二硫键稳定Fv抗体基因的构建及表达产物的生物学活性分析

王中康,李泮志,袁青,于红,李蒙,殷幼平

(重庆大学生物工程学院/重庆大学基因工程研究中心/重庆市基因功能与调控重点实验室)

收稿日期 2008-12-10 修回日期 2009-3-9 网络版发布日期 2009-9-10 接受日期 2009-9-16

摘要

【目的】构建鼠源抗柑橘溃疡病菌二硫键稳定Fv抗体(dsFv)片段基因,原核表达并将其复性为具有免疫活性的dsFv抗体。**【方法】**采用PCR定点突变的方法构建dsFv重链(VH)及轻链可变区(VL)基因,分别将其连接入表达载体中,于E.coli BL21(DE3)中诱导表达,表达产物溶解后稀释入复性缓冲液中使其重折叠为dsFv抗体并纯化。SDS-PAGE及Western-blot分析表达及复性产物,BIAcore检测dsFv与Xac-LPS的亲合力,ELISA验证dsFv的特异性及稳定性。**【结果】**测序结果表明在VH的44位和VL的100位成功引入了半胱氨酸突变位点,实现了高效的原核表达,表达产物主要以包涵体的形式存在。SDS-PAGE分析显示VH和VL的大小为23 kD,并将其成功复性,复性后大小为46 kD。BIAcore分析表明dsFv对Xac-LPS保持了很高的亲合力,亲和常数(KD)达到 3.40×10^{-10} M。ELISA证明dsFv具有较高的抗原特异性并且热稳定性较scFv提高近20℃。**【结论】**成功表达并复性了dsFv抗体,为柑橘溃疡病菌的免疫诊断提供了高效优质的重组抗体。

关键词 [柑橘溃疡病菌](#) [二硫键稳定Fv抗体](#) [包涵体](#) [复性](#) [BIAcore分析](#)

分类号

DOI:

通讯作者:

殷幼平 ypy128@vip.sina.com

作者个人主页:

王中康;李泮志;袁青;于红;李蒙;殷幼平

扩展功能

本文信息

▶ [Supporting info](#)

▶ [PDF\(551KB\)](#)

▶ [\[HTML全文\]\(OKB\)](#)

▶ [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](#)

相关信息

▶ [本刊中 包含“柑橘溃疡病菌”的相关文章](#)

▶ [本文作者相关文章](#)

· [王中康,李泮志,袁青,于红,李蒙,殷幼平](#)