

关于疯牛病及其检测试剂盒

 关键词: [疯牛病](#) [牛病](#) [羊骚痒病](#) [诊断](#) [羊病诊断](#)

所属年份: 2004

成果类型: 应用技术

所处阶段:

成果体现形式:

知识产权形式:

项目合作方式:

成果完成单位: 中国科学院微生物研究所

成果摘要:

近年来疯牛病已由欧洲传播到了亚洲,日本已发现六例患疯牛病的牛,中国急需建立疯牛病检测方法,通过严格检疫,杜绝疯牛病发生,保证中国养牛业的发展,是国民经济的一个重要问题。微生物所分子病毒室在国家948项目“疯牛病和羊骚痒病检疫用单克隆抗体细胞株的引进和分子构象检测技术的建立”和973项目“蛋白质功能、三维结构和折叠原理研究”资金支持下,分别对中国肉牛和小尾寒羊朊蛋白(PrPC)进行基因构建表达纯化和二级结构研究并制备了牛bPrPC抗血清,用以检测羊骚痒病获得成功(与疯牛病同源性很高,也可检测疯牛病),实现了免疫印迹法诊断疯牛病和羊骚痒病的国产化。对酵母朊病毒结构域Ure2p1-65的构象转变进行了研究,将Ure2p1-65的构象转变进行了研究。将Ure2p1-65与谷胱甘肽-硫-转移酶(GST)融合表达。结果表明Ure2p1-65可非特异性地改变其融合蛋白的空间结构,获得类似致病型朊病毒PrPSC的性质,包括抵抗蛋白酶K消化能力显著增强等。目前疯牛病检测中区分正常型朊蛋白(PrPC)和致病型朊病毒(PrPSC)的主要依据是前者对蛋白酶消化敏感而后者具有较强的抵抗力。标准的阳性对照为感染疯牛病等海绵状脑病的脑组织提取物,来源极其有限并具有感染性,在使用、保存和运输中必须受到严格监控。这显然不适合中国国情。因此必须找到一种安全而又廉价的阳性对照替代品并应用到实际中去,以保证疯牛病检测方法的准确性和可靠性。这将是广大基层检疫部门、海关等监控疯牛病疫情和杜绝可疑污染源入境的关键技术。结合上述工作基础和实际需求,拟将牛正常朊蛋白(bPrPC)和酵母朊病毒结构域(Ure2p1-65)融合表达,实现牛朊蛋白的人工构象转变,并获得抵抗蛋白酶消化的能力。除理论研究意义外,得到的融合变构体可作为阳性对照替代品应用于疯牛病的检测。该项目将制备的阳性替代物属基因工程产品,本身无感染危险性,适于大量生产;便于确定合适的蛋白酶消化浓度,可避免操作中假阳性或假阴性结果。其依据如下: 1. 细菌表达的bPrPC-Ure2p1-65无PrPSC感染必需的糖基磷酸肌醇化等转录后修饰。 2. bPrPC-Ure2p1-65的构象转变属Ure2p1-65依赖型,体内增殖环境为低等生物,与人体和哺乳动物相差甚远。bPrPC-Ure2p1-65的构象转变本质上属突变类。至今通过点突变,缺失等手段产生的PrPC突变体可发生构象转变,但证实均无感染性。 4. bPrPC-Ure2p1-65已经过蛋白变性和复性处理。证据表明即便是PrPSC经过上述处理也不能恢复其致病性。研究将进一步完善和发展已建立的免疫印迹法诊断疯牛病方法,包括牛朊蛋白抗血清的大量制备、抗体IgG的纯化等。最终将牛朊蛋白抗体、阳性对照替代品、阴性对照组装成试剂盒,以期应用于疯牛病的检疫和可疑污染源的鉴定。二、基因工程疯牛病检测试剂盒的研制、申报和专利申请: 试剂盒研制: (一)为加强对疯牛病的检测与监控,已建立了一疯牛病病原诊断体系,目前已完成阳性对照替代品的设计、制备和应用;牛朊蛋白高效价抗体的制备与IgG纯化;检测试剂盒的组装与试用;为达到产业化要求,需大批量制备牛朊蛋白抗体IgG,阳性对照替代品,确定具体操作标准和注意事项。(二)试剂盒的申报和包装设计: 已于2003年3月份向农业部畜牧兽医局申请了该项目研制的“基因工程疯牛病检测试剂盒”,经询问将于最近通过预审(因非典有所延误),批准进入送三批样品到农业部兽医生物制品检定所进行检定,检定合格后,经复审即可获得新兽医制品证书,设计试剂盒包装后将根据国家需要及时与产业部门合作投产。(三)国内现在没有单位申请疯牛病毒检测试剂盒,国家检疫部门建立了两个检测实验室(北京和青岛出入境检疫局),但没有成熟的检测方法。(四)专利申请: 该项目研制的疯牛病及其它朊病毒基因工程安全的阳性对照已申请专利(专利申请号: 03130685.3)。疯牛病现已从欧洲蔓延至日本和加拿大,日本造成2000亿日元损失。中国应从“非

行业资讯

[新疆马鼻疽消灭措施的研究和推广](#)
[绵羊种布鲁氏菌病的综合防治](#)
[生物兽药抗痢灵](#)
[高效驱虫药-害祸灭](#)
[用ELISA试剂盒对猪瘟的快速诊断](#)
[治疗牛子宫内膜炎中药复方制...](#)
[羊高发高害寄生虫病综合防治...](#)
[新疆蠓蚋调查研究](#)
[家畜蝇害长效驱蝇剂的研制](#)
[鸡马立克氏病病毒抗独特型抗体苗](#)

成果交流

典”突发事件中吸取教训，及早开展疯牛病检测。

推荐成果

· 广东主要果树资源的收集、整理与...	04-23
· 硫酸新霉素(纯粉)	04-23
· 痛风清	04-23
· 雏鸡旺	04-23
· 新型鸭瘟病原的分离鉴定与防治研究	04-23
· 禽脑脊髓炎油乳剂灭活疫苗的研制...	04-23
· 鸡传染性鼻炎（多价）—鸡新城疫...	04-23

Google提供的广告

>> 信息发布

版权声明 | 关于我们 | 客户服务 | 联系我们 | 加盟合作 | 友情链接 | 站内导航
国科网科技频道 京ICP备12345678号