中国寄生虫学与寄生虫病杂志
CHINESE JOURNAL OF PARASITOLOGY AND PARASITIC DISEASES
ISSN 1000-7423
CN 31-1248/R
主管：中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会
主办：中华预防医学会
中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所

中国寄生虫学与寄生虫病杂志 » 2013, Vol. 31 » Issue (5) :363-366 DOI:

粉尘螨第7类变应原（Der f 7）基因的克隆表达及免疫学特性鉴定

郑蔓茵，邬玉兰，闫浩，吉坤美，刘志刚*

深圳大学医学院过敏反应与免疫学研究所，深圳 518060

Cloning，Expression and Identification of Der f 7 gene from Dermatophagoides farinae and its Immunological Characteristics

ZHENG Man-yin, WU Yu-lan, YAN Hao, JI Kun-mei, LIU Zhi-gang*

Allergy and Immunology Institute, Medical School, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China

摘要 | 参考文献 | 相关文章

Download: PDF (3674KB) HTML 1KB Export: BibTeX or EndNote (RIS) Supporting Info

摘要 目的 克隆和表达粉尘螨第7类变应原基因，并鉴定重组蛋白的免疫原性。 方法 提取粉尘螨总RNA，根据GenBank提供的Der f 7 编码区（CDS）（登录号为AY 283292）序列设计特异性引物，逆转录PCR（RT-PCR）克隆Der f 7基因。将测序正确的目的片段克隆至pET-32a表达载体，得到的重组质粒pET-32a-Der f 7在大肠埃希菌（E. coli）BL21（DE3）中用异丙基-β-D-硫代半乳糖苷（IPTG）诱导表达，通过镍离子亲和层析纯化目的蛋白。十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）检测目的蛋白表达和纯化结果，蛋白质印迹（Western Blotting）分析重组蛋白的免疫原性。 结果 RT-PCR结果显示，Der f 7基因片段大小约为650 bp。测序结果表明，Der f 7基因片段与已发表的粉尘螨Der f 7基因（登录号为FJ436108）同源性为99%。SDS-PAGE结果显示，重组质粒pET32a-Der f 7在BL21（DE3）中高效表达，重组蛋白相对分子质量（Mr）约为23 000。Western Blotting分析结果表明，Der f 7重组蛋白可被尘螨过敏患者血清识别。 结论 成功构建了粉尘螨第7类变应原的原核表达载体，并获得具有免疫原性的Der f 7重组蛋白。

关键词： 粉尘螨 Der f 7 变应原 表达 纯化

Abstract： Objective To clone and express Der f 7 gene of Dermatophagoides farinae, and identify its immunogenicity. Methods Total RNA was extracted from D. farinae mites. A reference sequence （Accession No. AY283292） was used to design specific primers. The Der f 7 gene fragment was amplified by RT-PCR, and cloned into pET-32a vector. The recombinant plasmid was transformed into E. coli BL21 （DE3） and induced with IPTG for protein expression. The recombinant protein was purified by Ni2+ chelating affinity chromatography and analyzed by SDS-PAGE and Western blotting. Results The Der f 7 gene fragment was about 650 bp, and shared 99% homology with the published one （Accession No. FJ436108）. SDS-PAGE result showed its relative molecular weight （Mr） of 23 000. The recombinant protein showed appropriate combination ability with IgE in sera of mite allergic patients. Conclusion Der f 7 gene has been expressed in prokaryotic expression system and shows allergenicity.

Keywords： Dermatophagoides farinae Der f 7 Allergen Expression Purification

Service
把本文推荐给朋友
加入我的书架
加入引用管理器
Email Alert
RSS
作者相关文章

引用本文:
郑蔓茵，邬玉兰，闫浩，吉坤美，刘志刚*.粉尘螨第7类变应原（Der f 7）基因的克隆表达及免疫学特性鉴定[J] 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2013,V31(5): 363-366

ZHENG Man-yin, WU Yu-lan, YAN Hao, JI Kun-mei, LIU Zhi-gang*.Cloning，Expression and Identification of Der f 7 gene from Dermatophagoides farinae and its Immunological Characteristics[J] , 2013,V31(5):363-366