

## 论文

### 乙型肝炎病毒NS1蛋白原核表达及其免疫原性分析

韦艳<sup>1</sup>, 王晓芳<sup>2</sup>

1. 贵阳医学院公共卫生学院环境卫生学教研室, 贵州 贵阳 550004;
2. 中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所

#### 摘要:

目的 采用大肠杆菌系统表达乙脑病毒NS1蛋白, 并对表达产物进行免疫原性分析。方法 将乙脑病毒NS1基因克隆入pET30a载体中, 表达产物经Ni<sup>+</sup>亲和层析纯化后行SDS-PAGE和Western blot分析; 并将纯化产物免疫新西兰大白兔, 获得的免疫血清作间接ELISA及免疫荧光检测。结果 重组JEV NS1蛋白获得表达并纯化成功; Western blot结果显示纯化蛋白能与JEV免疫的鼠多克隆腹水反应; 兔免疫血清的间接ELISA结果显示血清效价达到1: 51 200以上; 免疫荧光结果显示血清作1: 50、1: 100、1: 200稀释时, JEV感染的BHK细胞均显示荧光。结论 重组NS1蛋白能在大肠杆菌系统中获得表达; 纯化产物具有免疫原性, 为进一步研究NS1蛋白的生物学特性及乙脑病毒的诊断试剂提供参考依据。

关键词: 乙型肝炎病毒 非结构蛋白 原核表达 免疫原性

### Expression of protein NS1 of Japanese encephalitis virus and its immunogenicity

WEI Yan<sup>1</sup>, WANG Xiao-fang<sup>2</sup>

Department of Environment Health, School of Public Health, Guiyang Medical College, Guiyang, Guizhou Province 550004, China

#### Abstract:

Objective To express protein NS1 of Japanese encephalitis virus(JEV) in *Escherichia coli* and to evaluate its immunogenicity. Methods JEV NS1 gene was cloned into the pET30a vector. After being purified with Ni-NTA chromatography, the expression products were analyzed with sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE) and Western blot. Rabbits were immunized with the purified protein and their serum was assayed with enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) and immunofluorescence assay(IFA). Results Recombinant NS1 protein was expressed and purified successfully. Western blot results showed that the purified product could reacted with the ascites of mice immunized with JEV. Indirect ELISA results showed that the serum titer reached above 1:51200. IFA showed that when the serum was diluted to 1: 50, 1: 100, and 1: 200, the florescent light could be detected in *Escherichia coli*, and its immunogenicity was verified. The result was observed in baby hamster kidney(BHK) cells infected with JEV. Conclusion Recombinant JEV NS1 protein was expressed in *Escherichia coli* and the purified protein was of immunogenicity, which could be used for developing diagnostic reagent of JEV.

Keywords: Japanese encephalitis virus nonstructural protein prokaryotic expression immunogenicity

收稿日期 2012-11-16 修回日期 网络版发布日期 2013-10-22

DOI: 10.11847/zgggws2014-30-05-24

基金项目:

国家“十二五”科技重大专项(2012ZX10004219)

通讯作者: 王晓芳

作者简介:

#### 参考文献:

- [1] 唐晓燕, 李幸乐, 康锴, 等. 河南省部分地区病毒性脑炎监测分析[J]. 中国公共卫生, 2012, 28(7): 967-970.

#### 扩展功能

##### 本文信息

- ▶ Supporting info
- ▶ PDF(1092KB)
- ▶ [HTML全文]
- ▶ 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

- ▶ 乙型肝炎病毒
- ▶ 非结构蛋白
- ▶ 原核表达
- ▶ 免疫原性

##### 本文作者相关文章

- ▶ 韦艳
- ▶ 王晓芳

##### PubMed

- ▶ Article by
- ▶ Article by

- [2] 张少白,李艺星,杨俊峰,等.陕西省2005年病毒性脑炎监测结果分析[J].中国公共卫生,2007,23(9): 1114-1116.
- [3] Shu PY,Chen LK,Chang SF,et al.Dengue virus serotyping based on envelope and membrane and nonstructural protein NS1 serotype-specific capture immunoglobulin M enzyme-linked immunosorbent assays[J].Microbiol,2004,42: 2489-2494.
- [4] Costa SM,Freire MS,Alves AMB.DNA vaccine against the non-structural 1 protein(NS1) of dengue 2 virus[J].Vaccine,2005,JAVC: 5570-7773.
- [5] Walter E,Robert D,Philip K.Dengue virions and antigen in brain and serum of infected mice [J].Virol,1970a,6: 500-506.
- [6] Mackenzie JM,Jones MK,Young PR.Immunolocalization of the dengue virus nonstructural glycoprotein NS1 suggests a role in viral RNA replication[J].Virology,1996,220: 232-240.

本刊中的类似文章

1. 张小娟,王新彩,段广才,张荣光.幽门螺杆菌HspA乳酸菌疫苗构建及免疫反应性鉴定[J].中国公共卫生,2013,29(7): 1070-1073
2. 夏胜利,尤爱国,闫昆明,谢志强,贾晓霞,茹维平,黄丽莉,孙会军,刘国华,孙建伟,李启明,黄学勇,郭万申,张锦,许汴利.甲型H1N1流感疫苗免疫原性及安全性评价[J].中国公共卫生,2011,27(1): 23-25
3. 王静霓,姚晴青,袁权,夏玉刚,陆一涵,高眉扬,葛胜祥,姜庆五,郑英杰.高中生乙型肝炎血清学及S基因序列进化分析[J].中国公共卫生,2011,27(1): 65-66
4. 刘玉江,戴佳琳,黄江,王宇.牛带绦虫ATE基因功能预测及原核表达[J].中国公共卫生,2011,27(1): 73-74
5. 刘玉江,戴佳琳,黄江,王宇.猪带绦虫成虫EF-1基因生物信息分析及原核表达[J].中国公共卫生,2011,27(1): 83-84
6. 孟繁岳,庄菱,胡月梅,朱风才.脑膜炎球菌多糖疫苗安全性及免疫原性评价[J].中国公共卫生,2010,26(12): 1534-1536
7. 戴佳琳,黄江,李波,廖兴江,王宇.牛带绦虫乳酸脱氢酶基因原核表达及免疫学特征[J].中国公共卫生,2010,26(8): 987-988
8. 戴佳琳,廖兴江,胡旭初,徐劲,余新炳,吴璇,黄江.亚洲牛带绦虫自吞噬相关蛋白3基因克隆及表达[J].中国公共卫生,2009,25(12): 1443-1444
9. 周灵贵,戴佳琳,黄江,廖兴江,胡旭初,余新炳,申萍香,郎书源.亚洲带绦虫包虫诊断抗原P-29基因克隆表达[J].中国公共卫生,2009,25(9): 1091-1093
10. 王杰,戴佳琳,黄江,吴璇,廖兴江,申萍香,周灵贵,杜武英,郎书源.亚洲牛带绦虫Spef1-Like基因克隆、表达及纯化[J].中国公共卫生,2009,25(7): 827-828
11. 刘世国,左丽,王娇.DEN-2分离株E基因部分序列原核蛋白表达[J].中国公共卫生,2009,25(6): 660-662
12. 戴鹏,戴佳琳,黄江,廖兴江,郎书源,周灵贵,申萍香.亚洲牛带绦虫TaCRISP基因克隆、表达和序列分析[J].中国公共卫生,2009,25(4): 398-400
13. 马俊英,黄江,吴璇,胡旭初,余新炳,王虎.亚洲牛带绦虫WD40基因表达及免疫学分析[J].中国公共卫生,2008,24(12): 1477-1478
14. 许国章,陈耀荣,姜立民,边国林,马瑞,吴洁,董红军,徐国峰,张姝,倪红霞.冻干甲肝减毒活疫苗免疫原性及持久性分析[J].中国公共卫生,2008,24(11): 1407-1408
15. 黄江,胡旭初,徐劲,余新炳,包怀恩,郎书源,廖兴江.亚洲牛带绦虫26kDa GST基因表达及免疫学分析[J].中国公共卫生,2008,24(8): 970-972
16. 邢万金,包晓红.人DR5胞外区域克隆及在大肠埃希菌中表达[J].中国公共卫生,2008,24(6): 762-764
17. 曹海霞,王志玉.汉坦病毒包膜糖蛋白细胞融合活性研究进展[J].中国公共卫生,2008,24(4): 498-500
18. 王作龛,安淑一,王燕,韩悦,郭军巧.辽宁省乙型脑炎病毒分离及进化树分析[J].中国公共卫生,2008,24(3): 341-343
19. 王新帅,丘立文,狄飘,陈伟俊,潘玉先,车小燕.II型登革病毒非结构蛋白NS1的克隆表达及抗体制备[J].中国公共卫生,2007,23(12): 1478-1480
20. 吕刚,胡旭初,黄灿,李艳文,徐劲,吴忠道,余新炳.日本血吸虫乳酸脱氢酶原核表达、纯化及鉴定[J].中国公共卫生,2007,23(10): 1242-1244
21. 汪雪峰,王克霞,陈琳,唐小龙.球形幽门螺杆菌vacA基因表达质粒构建及表达[J].中国公共卫生,2007,23(7): 834-836
22. 余鹏博,王敬军,张家驹,郝志明,刘中华,董建华,唐青,许文波.汉坦病毒核蛋白原核表达纯化及其单抗制备[J].中国公共卫生,2005,21(12): 1445-1447
23. 黄品贤,宋花玲,张忆萍,顾正权,闵继光,卫秀余,姚龙涛.早春猪舍三带喙库蚊自然感染乙脑病毒调查[J].中国公共卫生,2004,20(11): 1356-1358
24. 何玲,潘泽民,谭晓华,袁红琳,刘仁海,杨磊.重组人类抗种相关基因在大肠埃希菌的表达[J].中国公共卫生,2004,20(5): 540-541
25. 胡晓芳,孟冬娅,胡玲美,王洪军,张志强.重组痘苗病毒免疫小鼠的实验研究[J].中国公共卫生,2002,18(11): 1319-1322
26. 朱进,张云,唐家琪,李先富,陶开华.人源化抗CD<sub>3</sub>单链抗体的构建、序列分析和表达研究[J].中国公共卫生,2002,18(1): 19-21
27. 王晶,李敏,刘文静,杜晓杰,王玲,李先富,王长军,潘秀珍,高基民.Sao蛋白多克隆抗体制备鉴定及促全血杀菌作用[J].中国公共卫生,2014,30(3): 364-367

反馈人	<input type="text"/>	邮箱地址	<input type="text"/>
反馈标题	<input type="text"/>	验证码	<input type="text" value="5742"/>