

梅毒血清学诊断试剂盒的初步研究

徐磊
同济大学医学院

产品简介

梅毒病原体为苍白密螺旋体(Tp), 俗称梅毒螺旋体。对Tp的诊断目前主要依据病史与临床检查, 辅助以一些血清学方法, 如血球凝集试验(TPHA)和荧光抗体吸收试验(FTA-ABS)。17kDa与47kDa蛋白是Tp特异性表面抗原, 患者感染Tp后能够产生相应的特异性抗体。我们利用基因工程的方法, 通过大肠杆菌表达Tp的17kDa与47kDa特异性抗原, 建立一种简便、高效的Tp血清学诊断方法。

标准阳性血清与17kDa和47kDa抗原的ELISA结果

项目目标

该项目通过PCR方法, 自Tp基因组DNA扩增17kDa与47kDa蛋白基因, 构建pGEX 4T-1表达载体, 诱导表达并纯化蛋白。利用ELISA方法检测正常与梅毒患者血清样品, 分析其检出率与特异性, 建立梅毒检测试剂盒。

联系人: 徐磊教授
同济大学医学院
联系电话 13764040054
邮箱 xulei@tongji.edu.cn

背景介绍

血清学检查是梅毒诊断的重要手段。其中脂质抗原试验是应用较为普遍的一类诊断方法, 简便快捷且敏感性高, 但特异性不强。梅毒特异性的方法则主要利用Tp活菌或Tp提取物作为抗原, 通过TPHA或FTA-ABS等手段进行检测。由于活菌或提取物存在潜在的危险性, 故其应用受到很大的限制。利用梅毒螺旋体特异性重组抗原的检测方法, 特异性高、简便易行且不存在安全隐患, 有望取代上述各种方法, 成为梅毒诊断的主要手段。17kDa与47kDa抗原是目前发现的最为理想的梅毒螺旋体特异性抗原。通过我们的研究也初步证实, 重组17kDa与47kDa抗原均由较高的检出率和特异性, 且存在一定的互补性。

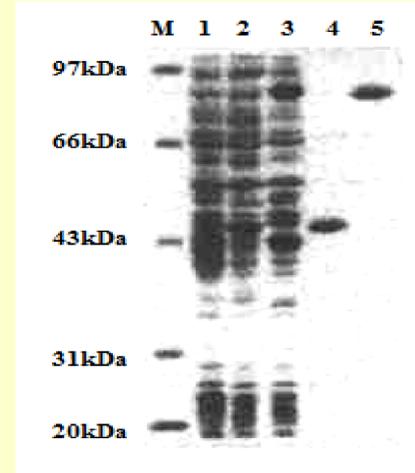
主要结果

1 17kDa与47kDa抗原基因PCR产物在克隆与亚克隆后, 通过序列测定, 与已知基因序列进行比较, 证实基因序列完全正确。

2 重组蛋白诱导表达后, SDS-PAGE电泳检测其总蛋白, 蛋白表达菌株诱导后均出现明显的重组蛋白条带, 对照组则未见相应条带, 证实基因获得高效表达。重组蛋白与谷胱甘肽硫转移酶(GST)形成融合蛋白, 分子量应分别为46kDa与76kDa, 与预期值相符。

3 表达产物经亲和层析纯化后, 经电泳检测, 产物均为单一条带, 证明其纯度符合要求。

4 利用重组17kDa与47kDa抗原40份不同来源的血清样品进行ELISA试验, 结果见表1。17kDa抗原具有很高的反应性, 47kDa抗原同样有很好反应性, 略低于17kDa抗原, 两种重组抗原具有良好的特异性。



重组蛋白SDS-PAGE图谱:

M. 分子量标准; 1. 对照组细菌总蛋白; 2. 17kDa细菌总蛋白; 3. 47kDa细菌总蛋白; 4. 17kDa纯化产物; 5. 47kDa纯化产物

标准阳性血清与17kDa和47kDa抗原的ELISA结果

样品	抗原	
	17kDa	47kDa
1	1.985	0.698
2	2.110	0.764
3	1.629	0.847
4	2.445	0.902
5	2.532	1.275
6	2.560	0.981
7	2.169	0.815
8	2.863	0.751
9	2.190	0.671
10	0.444	0.840

结论

该项目通过17kDa与47kDa两种重组抗原相结合, 有望建立一种高质量的Tp血清学特异性诊断试剂盒。