

草鱼嗜水气单胞菌候选疫苗

邱并生

(《微生物学通报》编委会 北京 100101)

草鱼是我国淡水养殖最重要的鱼类之一,其养殖过程易受细菌性或病毒性病原的侵袭,嗜水气单胞菌 *Aeromonas hydrophila* 是引发其暴发性败血症的主要细菌性病原之一,对草鱼养殖造成严重的威胁。因此研制疫苗以实现免疫预防极为重要。传统的嗜水气单胞菌疫苗有灭活全菌疫苗、弱毒疫苗等,但其成分复杂、易对鱼体产生较大影响,且存在回复突变的风险,同时嗜水气单胞菌复杂的血清型也影响着其免疫保护效果。基因工程亚单位疫苗是对一个或多个保护性抗原基因进行重组表达,具有抗原确定、抗体出现早、滴度高、持续时间长等优点,因而成为疫苗研究的热点。

Maiti 等^[1]从鲢鱼病灶处分离了一株嗜水气单胞菌,设计了一对特异性引物首次克隆到该菌的 OmpW 基因,并用于扩增气单胞菌属内的 42 种不同菌,结果显示,除了一种菌(*A. veronii* biovar *veronii*, VTE338)外,其余的均能扩增出特异性条带。Western blot 显示利用重组融合蛋白 OmpW 制备的抗体能与此 42 种菌产生免疫印迹反应,说明 OmpW 可能是气单胞菌属的共同保护性抗原。本期介绍了刘明智、叶星等发表的文章“嗜水气单胞菌外膜蛋白 W 基因的表达及其免疫原性分析”^[2],作者从患暴发性败血症的草鱼病灶处分离鉴定出嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*) Wp3 菌株^[3],以其基因组 DNA 为模板扩增外膜蛋白 W 基因(OmpW),该基因全长为 865 bp,开放式阅读框(ORF)为 615 bp,与标准株 ATCC7966 的 OmpW 基因同源性为 99.8%。根据 ORF 序列设计引物扩增 OmpW 成熟肽编码序列并将其插入到表达载体 pQE30 中,转化大肠杆菌,经诱导可表达分子量为 24.7 kD 的带 His 标签的融合外膜蛋白 His-W。用此融合蛋白免疫草鱼,所得草鱼血清经 ELISA 分析显示呈现阳性反应,说明重组蛋白能诱导产生抗体。采用实时荧光定量 PCR 分析草鱼头肾组织 IgM 基因表达水平的变化,结果显示免疫组 IgM 的表达量均明显高于空白组,其中低浓度免疫组(2 µg/g)与空白对照组的差异显著($P<0.05$),说明融合蛋白可使草鱼产生良好的免疫应答并上调抗体基因表达,产生高效抗体。保护性实验显示,不同免疫剂量均可使免疫组获得较高保护率(57%–86%)。研究结果显示重组嗜水气单胞菌外膜蛋白 W 可作为草鱼嗜水气单胞菌基因工程亚单位候选疫苗,为有效预防嗜水气单胞菌所致的草鱼败血症并减少药物使用,实现健康养殖等奠定基础。

关键词: 嗜水气单胞菌, 外膜蛋白 W, 基因工程表达, 免疫原性, IgM, 保护率

参考文献

- [1] Maiti B, Raghunath P, Karunasagar I, et al. Cloning and expression of an outer membrane protein OmpW of *Aeromonas hydrophila* and study of its distribution in *Aeromonas* spp.. J Appl Microbiol, 2009, 107(4): 1157–1167.
- [2] 刘明智, 叶星, 田园园, 等. 嗜水气单胞菌外膜蛋白 W 基因的表达及其免疫原性分析. 微生物学通报. 2011, 38(3): 437–445.
- [3] 邓国成, 江小燕, 叶星, 等. 草鱼出血病混合感染的嗜水气单胞菌的分离、鉴定与理化特性. 微生物学通报. 2009, 36(8): 1170–1177.

A candidate vaccine for grass carp *Aeromonas hydrophila* disease

QIU Bing-Sheng

(The Editorial Board of Microbiology China, Beijing 100101, China)

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, Outer membrane protein W gene, Genetic engineering expression, Immunogenicity, IgM, Protection