

莱茵衣藻纤毛内运送蛋白 IFT57 抗原的原核表达、纯化及其多克隆抗体的制备

韩鹏飞^{1,2,3}, 闫珍^{1,2,3}, 樊振川^{1,2,3*}

(1. 天津科技大学 大健康生物技术研究所 天津 300457; 2. 天津市大健康生物技术国际联合研究中心 天津 300457; 3. 天津科技大学 食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘要: IFT57 是纤毛内运送蛋白 IFT B 复合物的一个重要组分, 在鞭毛组装中发挥着重要作用。利用莱茵衣藻 *ift57* 基因中一段编码亲水性氨基酸序列的片段构建了带有 6×His 标签的原核表达载体 pET-28a(+)-*ift57*, 并转入大肠杆菌 BL21(DE3), 通过 IPTG 诱导表达蛋白质, 以 12 g/dL SDS-PAGE 鉴定, 获得相对分子质量大小为 17 200 的 IFT57 重组蛋白质片段。对 6×His-IFT57 融合蛋白质进行纯化, 并用其免疫新西兰大白兔, 采集第 5 次免疫后血液并分离血清。利用 Western blotting 对所获抗体进行特异性鉴定。ELISA 测定结果表明, 抗血清效价为 512 000。在抗血清经 Protein A 纯化后, Western blotting 检测显示所制备的 IFT57 多克隆抗体能够特异性识别莱茵衣藻中的 IFT57 蛋白质。这一结果表明, 为表达纯化溶解性较差的蛋白质抗体制备提供了借鉴意义, 所获抗体为深入研究 IFT57 在鞭毛组装中的作用机理奠定了基础。

关键词: 莱茵衣藻; 纤毛; IFT57; 原核表达; 多克隆抗体

中图分类号: Q 786 文章编号: 1673-1689(2019)11-0108-07 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.11.015

Prokaryotic Expression and Purification of *Chlamydomonas reinhardtii* Intraflagellar Transport Protein 57 (IFT57) Antigen and Preparation of Polyclonal Antibody

HAN Pengfei^{1,2,3}, YAN Zhen^{1,2,3}, FAN Zhenchuan^{*1,2,3}

(1. Institute of Health Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China; 2. International Collaborative Research Center for Health Biotechnology, Tianjin, 300457, China; 3. College of Food Science and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: IFT57 is a subunit of the intraflagellar transport protein B complex and plays an important role in cilium assembly. To express *ift57* gene, DNA fragments were amplified by PCR and cloned into an in-house modified version of the pET28a vector. The resulting proteins contained a 6×His tag at their N terminus. BL21 (DE3) *Escherichia coli* cells harboring the expression plasmid were grown in lysogeny broth (LB) medium at 37 °C and then induced with isopropyl-b-D-thiogalactoside,

收稿日期: 2017-04-12

基金项目: 国际遗传工程与生物技术中心合作研究项目(CRP/CHN15-01); 天津科技大学大学生实验室创新基金项目(1614A103X)。

* 通信作者: 樊振川(1974—), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事分子微生物学和生物技术方面的研究。E-mail: fanzhen@tust.edu.cn

引用本文: 韩鹏飞, 闫珍, 樊振川. 莱茵衣藻纤毛内运送蛋白 IFT57 抗原的原核表达、纯化及其多克隆抗体的制备[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(11): 108-114.

SDS-PAGE (12%) results showed that the molecular weights of the fusion protein 6×His-IFT57 was 17.2 KDa. After purified by affinity chromatography, the fusion protein 6×His-IFT57 was used as antigen to immune rabbits to prepare polyclonal antibody. After 5 hours we collected the immune blood, then separated the serum and identified the antibody activity. The ELISA result showed that the antibody titer of serum was determined to be about 512 000. After the affinity purification of Protein A, we got a high specificity and sensitivity polyclonal antibody. The results of Western blotting showed that the polyclonal antibody was specificity recognition to the IFT57 protein in *C. reinhardtii*. It provided the certain reference value for expression and purification of difficult soluble protein, and antibody preparation of polyclonal antibody. It laid the foundation to continue to study the functional mechanism of IFT57 in cilium assembly.

Keywords: *Chlamydomonas reinhardtii*, cilia, IFT57, prokaryotic expression, polyclonal antibody

莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)是一种单细胞真核藻类,它属于绿藻门(Chlorophyceae),等鞭毛纲(Isokontae),团藻目(Volvocales),衣藻属(*Chlamydomonas*)。衣藻属约100多种,其中莱茵衣藻在遗传学方面研究得较为全面^[1]。其细胞一侧具有两条等长的纤毛,赋予莱茵衣藻游动的能力^[2]。纤毛是由细胞微管为主构成的,一种细胞表面突起的亚细胞结构。纤毛的进化非常保守,广泛分布于原生生物到脊椎动物的真核细胞的细胞表面^[3]。

“鞭毛内运输”(intraflagellar transport,简称IFT)是发生于纤毛轴丝和纤毛膜之间,由IFT蛋白颗粒的两个亚蛋白复合物IFT-A和IFT-B,经其不同偶联的马达蛋白作用,从纤毛基部到顶端的一种蛋白质复合体的双向运输过程^[4-6]。IFT对纤毛的组装、维持和解聚起到决定性作用。纤毛具有极高的复杂性,在调控繁多的细胞生理活动和复杂的动物发育过程中具有重要作用。纤毛亚基蛋白IFT-A和IFT-B的突变,会引起纤毛运动性的丧失或纤毛的缺陷,从而导致人类出现肥胖、糖尿病、内脏转移、多囊肾病、色素性视网膜炎、复性呼吸道感染、不育症、智力迟钝、多趾等症状^[7]。因此,研究IFT蛋白颗粒复合物相关作用对纤毛病的发病机理和预防显得尤为重要。

最近,生物学研究发现IFT-B由两个亚基复合物IFT-B1和IFT-B2构成,IFT-B2中的蛋白IFT57位于IFT-B1和IFT-B2之间^[8-9]。IFT57是与运动有关的蛋白质,IFT57在鞭毛内运输中起到阻止IFT颗粒复合物降解的功能,在鞭毛组装中发挥着重要作用,它的缺失会导致纤毛的缺陷,影响细胞的游

动^[10]。因此,制备莱茵衣藻IFT57抗体,为进一步研究其维持纤毛长度和功能提供了前提。

原核表达系统具有表达量高、培养成本低、方法简单、稳定性好等优点,利用该系统表达蛋白质、制备抗体已经相当成熟^[11-12]。作者利用该系统表达*ift57*基因中一段编码亲水性氨基酸序列的片段,进行蛋白质的亲和纯化和抗原抗体的反应,比表达全基因序列具有快捷、高效、经济的优势,为原核表达一系列溶解性差、高相对分子质量、难纯化蛋白质提供了一定的借鉴意义。为深入研究IFT57在鞭毛内运输中的作用机理,为营养代谢纤毛病的研究奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株和质粒 大肠杆菌(*Escherichia coli*) XL1-blue, BL21(DE3)感受态细胞, pET-28a(+)质粒:均为作者所在实验室保存;莱茵衣藻CC-125藻种:为作者所在实验室保存。

1.1.2 主要试剂 限制性内切酶、*TransTaq* HiFi DNA聚合酶、T₄DNA连接酶和彩色预染蛋白Marker等:均购自美国Fermentas公司;质粒小提试剂盒、琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒、PCR产物纯化试剂盒、NC膜:购自北京索来宝公司;DNA Marker(1000 bp、100 bp)、dNTPs:购自全式金公司;Ni Sepharose™ 6 Fast Flow蛋白质纯化介质以及Protein A Sepharose™ CL-4B抗体纯化介质:均购自美国GE Healthcare公司;弗式完全佐剂和不完全佐剂:购自美国Sigma公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的山

羊抗兔 IgG 抗体:购自美国 Cell Signaling 公司。

1.1.3 实验动物 新西兰大白兔 1 只, 两月龄大, 体重 1.5 kg, 由天津欧阳实验种兔场提供。

1.2 方法

1.2.1 IFT57 蛋白质亲水性分析 运用 DNAMAN 软件对 IFT57 表达蛋白质进行亲水性分析, 见图 1。选取 N 端 319~469 aa 作为抗原, 在大肠杆菌中进行表达^[13]。

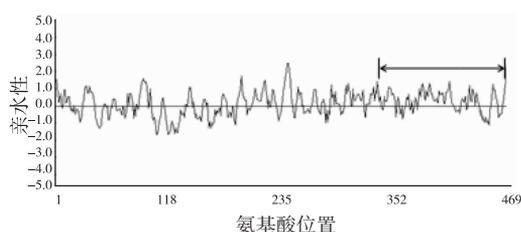


图 1 IFT57 表达蛋白质的亲水性分析

Fig. 1 Hydrophilic analysis the expressed of IFT57 protein

1.2.2 原核表达载体构建 作者所在实验室保存的 pET-28a (+) 表达载体用 *Bam*HI、*Hind*III 进行双酶切, 利用琼脂糖凝胶回收试剂盒进行纯化回收; 根据引物设计原则设计带有 *Bam*HI 和 *Hind*III 酶切位点的 PCR 引物, 上游引物 5'-TAGGATCCATGGTGAT CAGCA AGGCCTGG-3', 下游引物 5'-ACAAGCTT TCA CTA GTCCTCCTCCTCGTCG-3'。通过菌落 PCR 扩增目的片段, 利用产物纯化试剂盒回收扩增产物。用 *Bam*HI、*Hind*III 进行双酶切, 利用琼脂糖凝胶回收试剂盒纯化回收目的基因; 将目的基因与载体用 T₄DNA 连接酶连接后, 转化到大肠杆菌 XL1-blue 中, 涂到含卡那霉素 (50 μg/mL) 的 LB 平板上; 挑选阳性菌落进行培养, 提取重组质粒, 进行酶切和测序验证。

1.2.3 重组质粒在大肠杆菌中诱导表达验证 将验证正确的重组质粒用热激法转化到大肠杆菌 BL21 (DE3) 中, 在含卡那霉素 (50 μg/mL) 的 LB 平板上筛选含 pET-28a(+)-*ift57* 质粒的阳性菌落; 挑取阳性菌落于 LB 液体培养基 (含 50 μg/mL 卡那霉素) 过夜培养, 然后按照 1:20 接种体积分数转接扩大培养到含卡那霉素 (50 μg/mL) 的 LB 培养基中, 37 °C、225 r/min 培养至 OD₆₀₀ 值到 0.6~0.8, 加入终浓度 0.2 mmol/L 的 IPTG, 28 °C、200 r/min 诱导表达 6 h, 同时设置不加 IPTG 对照组。离心收集菌体并进行超声破碎, 分别取未诱导、全蛋白质、上清液和

沉淀与 2×蛋白质上样缓冲液混合煮沸, 用 12 g/dL SDS-PAGE 电泳检测蛋白质表达情况。

1.2.4 融合蛋白质 6×His-IFT57 的纯化 诱导表达后的菌体加入 15 mL His Binding buff (20 mmol/L NaH₂PO₄, 500 mmol/L NaCl, pH 7.4), 超声破碎菌体细胞至澄清, 离心 (4 °C, 12 000 r/min, 15 min) 收集上清液, 经过 0.45 μm 滤膜过滤后加入到预先平衡好的 Ni Sepharose™ 6 Fast Flow 纯化柱中, 经过常温结合、洗涤和洗脱等步骤得到纯化后的目的蛋白质。纯化条件为: 常温结合 1 h, 洗涤缓冲液 A (20 mmol/L 咪唑, 20 mmol/L NaH₂PO₄, 500 mmol/L NaCl, pH 7.4), 洗脱缓冲液 A (500 mmol/L 咪唑, 20 mmol/L NaH₂PO₄, 500 mmol/L NaCl, pH 7.4), 将上述收集的流穿液组分、洗涤组分以及洗脱组分分别用 12 g/dL SDS-PAGE 检测分析, 利用酶标仪, 结合标准曲线测定融合表达蛋白质浓度^[14]。通过不断优化所用溶液的 pH、盐离子浓度、咪唑的含量等条件得到了纯度较高的融合蛋白质。

1.2.5 多克隆抗体的制备 实验动物是两月龄大的新西兰雄性大白兔, 适应一周后进行第一次免疫。初次免疫前在耳源静脉取血, 分离血清, 在后续试验中作为阴性血清^[15-16]; 取 1 mg 纯化后的融合蛋白质与同剂量弗氏完全佐剂混合后充分乳化, 采用颈背部皮下多点注射法免疫实验动物; 之后每隔 10~14 d 取 1 mg 6×His-IFT57 蛋白质与同剂量的弗氏不完全佐剂进行乳化, 加强免疫大白兔, 每次加强免疫前进行耳源取血, 利用间接 ELISA 法测定抗血清的效价, 当效价满足试验要求, 加强免疫后一周取血分离抗血清, 分装冻存^[17-18]。

1.2.6 间接 ELISA 法测定抗血清效价 本实验采用间接 ELISA 法测定抗血清的效价, 以 6×His-IFT57 蛋白质作为包被抗原, 用 5% 的脱脂乳粉封闭后, 以所得的抗血清为一抗, 抗血清和阴性血清设定稀释梯度 1:1 000、1:2 000、1:4 000、1:8 000、1:16 000、1:32 000、1:64 000、1:128 000、1:256 000、1:512 000, 二抗为 HPR 标记的山羊抗兔 IgG (1:10 000), 经过 TMB (3', 3', 5', 5', -四甲基联苯胺) 显色并经 0.5 mol/L H₂SO₄ 终止, 测定 OD₄₅₀ 处的吸光值, 对照实验组血清 OD₄₅₀ 与阴性组血清 OD₄₅₀ 的数值, 确定抗血清的效价^[19]。

1.2.7 抗血清的纯化 分离完的抗血清用 Protein A Sepharose™ 进行纯化, 纯化条件为^[20]: 结合缓冲液

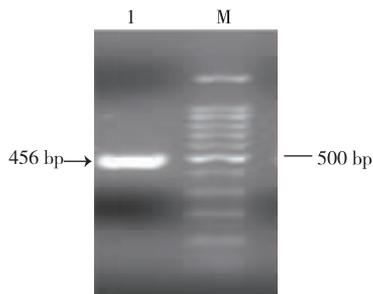
B(12 mmol/L Na₂HPO₄, 8 mmol/L NaH₂PO₄, pH 7.0), 洗脱缓冲液 B(0.1 mol/L 甘氨酸, pH 2.7)。收集洗脱液,用 1 mol/L Tris-HCl(pH 9.0)将洗脱液 pH 值调至中性,进行后续 Western blotting 检测。

1.2.8 Western blotting 检测多克隆抗体的特异性 将处理好的莱茵衣藻 CC-125 藻种进行蛋白质定量^[20],取 8 μL(20 ng)衣藻上清液加入 2 μL 5×上样缓冲液混匀,进行 SDS-PAGE 和电转印后,衣藻蛋白质转移到 PVDF 膜上,用 5%的脱脂奶粉封闭 1 h;多克隆抗体稀释度 1:500,二抗为 HRP 标记的山羊抗兔 IgG(1:5 000),加入显色液后曝光照相。

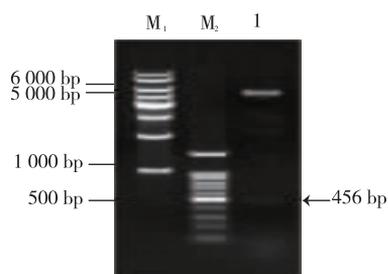
2 结果与分析

2.1 原核表达载体的构建及鉴定

PCR 扩增获得 456 bp 片段,与预期大小一致,见图 2(a)。将重组的质粒进行 *Bam*HI 和 *Hind*III 双酶切验证,获得条带大小约为 450 bp 左右的片段,与预期结果一致,见图 2(b)。将重组质粒送到金唯智公司测序,经过测序验证后序列完全正确,说明表达载体构建成功,表达质粒结构正确,并将其命名为 pET-28a(+)-*ift57*。



1: *ift57* 的 PCR 扩增; M: 100 bp 的核酸 Marker.



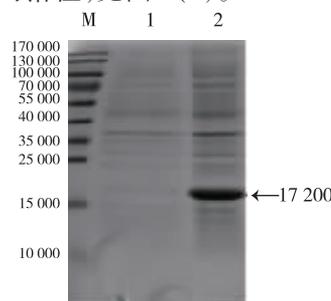
M1: 1 kb 的核酸 Marker; M2: 100 bp 的核酸 Marker; 1: pET-28a(+)-*ift57* 的双酶切验证.

(b)

图 2 *ift57* 的 PCR 扩增和重组表达载体的双酶切验证
Fig. 2 PCR amplification of *ift57* and identification of recombinant expression plasmid by restriction enzyme digestion

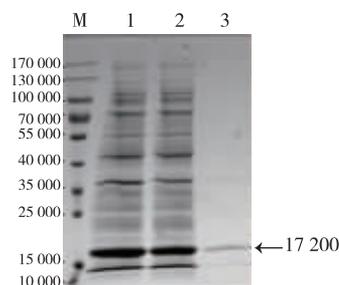
2.2 融合蛋白质的诱导表达及可溶性分析

pET-28a (+)-*ift57* 转化到大肠杆菌 BL21 (DE3)中,菌体经过 0.2 mmol/L IPTG 诱导(同时设置不含 IPTG 的对照组),经过 SDS-PAGE 在 17 200 处出现目的条带,对照组菌体蛋白质没有此带,说明目的蛋白质 6×His-IFT57 成功表达,见图 3(a);将诱导完的菌体经过超声破碎,取全蛋白质和上清液以及沉淀,经过 SDS-PAGE 发现,目的条带主要出现在上清液中,而沉淀中则几乎没有,说明融合蛋白质呈水可溶性,见图 3(b)。



M: 蛋白质 marker; 1: IPTG 诱导前全蛋白质; 2: IPTG 诱导后全蛋白质.

(a)



M: 蛋白质 marker; 1: IPTG 诱导后全蛋白质; 2: IPTG 诱导后上清液; 3: IPTG 诱导后沉淀.

(b)

图 3 SDS-PAGE 检测重组蛋白质在 *E. coli* BL21 (DE3) 中的表达

Fig. 3 SDS-PAGE analysis of the expression of recombinant protein in *E. coli* BL21 (DE3)

2.3 融合蛋白质的纯化

融合蛋白质 6×His-IFT57 经过 His 亲和层析纯化后,用 SDS-PAGE 进行分析。结果表明,融合蛋白质的相对分子质量大小正确,且纯度达 95%以上,见图 4。

2.4 抗血清效价的测定

用纯化得到的 6×His-IFT57 融合蛋白质作为抗原免疫新西兰大白兔,第五次免疫后经耳缘静脉少量采血,室温静置 1 h 后获得析出血清,以间接 ELISA 法测定抗血清的效价,利用酶标仪测定 OD₄₅₀

处的吸光值后计算出抗血清的效价,结果见图 5。可知,新西兰大白兔抗血清效价大于 512 000。



M: 蛋白质 marker; 1: IPTG 诱导后全蛋白质; 2: IPTG 诱导后上清液; 3: 流穿液; 4~6: 洗涤液 1, 洗涤液 2, 洗涤液 3; 7~9: 洗脱液 1, 洗脱液 2, 洗脱液 3。

图 4 经 Ni Sepharose™ 6 Fast Flow 纯化后 6×His-IFT57 融合蛋白质的 SDS-PAGE 检测

Fig. 4 SDS-PAGE analyzed the purified 6×His-IFT57 recombinant protein

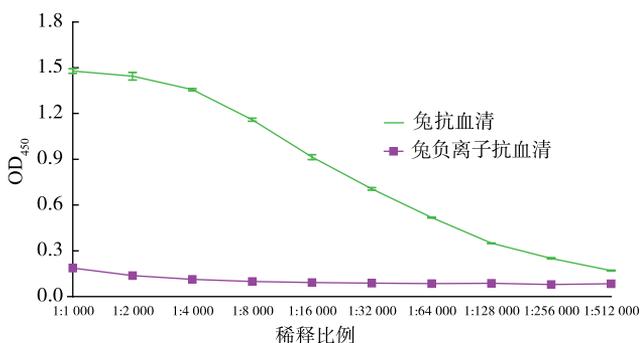


图 5 间接 ELISA 法测定抗血清的效价

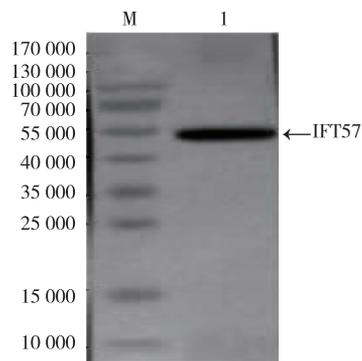
Fig. 5 Results of ELISA test of anti-IFT57 polyclonal antiserum

2.5 Western blotting 抗体特性检测

于第五次免疫后一周取兔子血分离抗血清。将抗血清首先经过 Protein A 纯化, 再进行抗原-抗体膜纯化。用 Western blotting 检测其识别莱茵衣藻中 IFT57 蛋白质的特异性, 经过显色可以在 57 000 附近识别出单一条带, 条带相对分子质量大小符合预期, 见图 6。即制备的多克隆抗体可以特异性识别 IFT57 蛋白质, 可以直接用于后续对 IFT57 的研究。

3 结语

目前对纤毛的结构、组装机制、功能的研究和对“纤毛相关疾病”相关机理的了解主要来自于对莱茵衣藻、四膜虫 (*Tetrahymena*)、锥体虫 (*Trypanosome*)、线虫 (*C. elegans*)、斑马鱼



M: 蛋白质 marker; 1: 亲和纯化后的 IFT57 抗体检测野生型莱茵衣藻中的 IFT57 蛋白质。

图 6 Western blotting ECL 曝光法验证 IFT57 抗体特异性
Fig. 6 IFT57 antibody specificity was detected by Western blotting through ECL method

(*Brachydaniorerio*) 和小鼠 (*Mus musculus*) 等各种模式生物的研究。莱茵衣藻以其特有的细胞培养优势、实验系统优势、生化研究优势和经典遗传优势等成为研究最广的一个^[21]。目前, 对纤毛的研究起步较晚, 我们对“纤毛内运输”调控机制、马达蛋白的活性调剂, 以及纤毛解聚和细胞周期之间的相互关系等认识有限, 对“纤毛相关疾病”的发病机理的研究, 以及对该类病的预防、诊断和治疗还有一定差距^[21-22]。因此, 继续对“纤毛内运输”中不同蛋白质颗粒的研究, 将会给这些问题带来答案, 对“纤毛相关疾病”机理的研究和预防治疗, 带来一定的理论基础和指导意义。

本研究的 *ift57* 基因, 虽然在对纤毛的形成中不起重要作用, 但是在阻碍纤毛降解过程中发挥重要作用, 从而避免了纤毛的缺失^[10]。为进一步研究 *ift57* 基因对纤毛缺失的影响, 我们制备了高特异性和高灵敏度的抗体。作者利用大肠杆菌, 经原核表达系统表达 *ift57* 部分亲水性序列, 采用小标签 His 纯化标签和目的蛋白质融合表达出纯度极高 (95% 以上) 的可溶性蛋白质, 作为抗原免疫动物获得相应抗血清。该抗体灵敏度强、特异性高, 仅经过一步纯化便可以经过 ECL 曝光, 充分验证其特异性和灵敏度。该方法极大的节省了融合蛋白质纯化和抗血清纯化步骤, 带来了一定经济效益。该方法为多克隆抗体的制备提供了一种新型手段, 为大相对分子质量、水不溶性蛋白质的纯化提供了借鉴意义。该抗体的制备为 *ift57* 在纤毛运输的作用机制和有关纤毛病的研究提供了有利的支持。

参考文献:

- [1] 张文平. 莱茵衣藻遗传转化条件的优化及表皮生长因子基因的转化[D]. 乌鲁木齐:新疆大学,2005.
- [2] LUCKER B F, MILLER M S, DZIEDZIC S A, et al. Direct interactions of intraflagellar transport complex bproteins IFT88, IFT52, and IFT46[J]. **Journal of Biological Chemistry**, 2010, 258(28):21508-21518.
- [3] WHEATLEY D N, WANG A M, STRUGNELL G E. Expression of primary cilia in mammalian cells[J]. **Cell Biol Int**, 1996, 20(1):73-81.
- [4] ROSENBAUM J L, WITMAN G B. Intraflagellar transport[J]. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, 2002, 3:813-825.
- [5] PIGINO G, GEIMER S, LANZAVECCHIA S, et al. Electron-tomographic analysis of intraflagellar transport particle trains in situ [J]. **Journal of Cell Biology**, 2009, 87(1):135-148.
- [6] SCHOLEY J M. Intraflagellar transport[J]. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, 2003, 19:423-443.
- [7] HIROAKI I, TAKAHIRO I, TOSHIKI Y, et al. TTC26/DYF13 is an intraflagellar transport protein required for transport of motility-related proteins into flagella[J]. **Elife**, 2014, 3:1-24.
- [8] TASCHNER M, WEBER K, MOURAO A, et al. Intraflagellar transport proteins 172, 80, 57, 54, 38, and 20 form a stable tubulin-binding IFT-B2 complex[J]. **Embo Journal**, 2016, 35:773-790.
- [9] KATOH Y, TERADA M, NISHIJIMA Y, et al. Overall Architecture of the intraflagellar transport (IFT)-B complex containing Cluap1/IFT38 as an essential component of the IFT-B peripheral subcomplex[J]. **Journal of Biological Chemistry**, 2016, 29(1):10962-10975.
- [10] XUE J, DANIEL H, CATHERINE H, et al. IFT57 stabilizes assembled intraflagellar transport complex and mediates transport of motility-related flagellar cargo[J]. **Journal of Cell Science**, 2017, 130:879-891.
- [11] REN Haiyue, DONG Bin, FAN Zhenchuan, et al. Prokaryotic expression and purification of *Chlamydomonas reinhardtii* intraflagellar transport protein 46, in *Escherichia coli* and preparation of polyclonal antibody [J]. **Chinese Journal of Biotechnology**, 2016, 39(8):1124-1132. (in Chinese)
- [12] DONG Bin, WU Song, FAN Zhenchuan, et al. Prokaryotic expression, purification, and polyclonal antibody preparation the *Chlamydomonas Reinhardtii* intraflagellar transport protein (IFT27), in *Escherichia coli* and polyclonal antibody[J]. **Biotechnology**, 2016, 26(6):532-538. (in Chinese)
- [13] ZHU Haidong, ZUO Li, REN Lijuan. Prokaryotic expression and production of polyclonal antibodies against nonstructural protein 1 of the Guizhou strain of the dengue type 2 virus[J]. **Journal of Pathogen Biology**, 2012(6):422-425. (in Chinese)
- [14] HUANG Bin. The preparation of ciprofloxacin monoclonal antibody, and the establishment of ELISA detection method [J]. **Agricultural Science and Technology**, 2011, 1:1-71. (in Chinese)
- [15] QI Bin, GU Wenyong. Preparation of multiclonal antibody of Anti-*P. sibiricum redoute* saponins[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2006, 25(2):17-23. (in Chinese)
- [16] DOU Yong, NING Xibin. The polyclonal antibody preparation of *Vibrio parahaemolyticus* and the analysis of its character[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2007, 26(3):85-89. (in Chinese)
- [17] ZHA Hongxian, LIU Gang, SHEN Weide, et al. Cloning, prokaryotic expression and preparation of polyclonal antibody of serine protease inhibitor 4 (serpin-4) from *Bombyx mori*[J]. **Acta Entomologica Sinica**, 2011, 54(6):642-647. (in Chinese)
- [18] KAPOOR R, MANDAL B, PAUL P K, et al. Production of cocktail of polyclonal antibodies using bacterial expressed recombinant protein for multiple virus detection[J]. **Journal of Virological Methods**, 2014, 196(2):7-14. (in Chinese)
- [19] LIMSUWANCHOTE S, WUNGSINTAWEEKUL J, YUSAKUL G, et al. Preparation of a monoclonal antibody against notoginsenoside R1, a distinctive saponin from *Panax notoginseng*, and its application to indirect competitive ELISA[J]. **Planta Medica**, 2014, 80(4):337-342.
- [20] PAZOUR G J, WILKERSON C G, WITMAN G B. A dynein light chain is essential for the retrograde particle movement of

- intraflagellar transport (IFT)[J]. **Journal of Cell Biology**, 1998, 141(4):979-992.
- [21] PAN Junmin. *Chlamydomonas reinhardtii*, cilia and ciliopathies [J]. **Science in China Series C: Life Sciences**, 2008, 38(5): 399-409. (in Chinese)
- [22] CAO Muqing, PAN Junmin. Cilia and ciliopathies [J]. **Chinese Journal of Cell Biology**, 2012, 34(9): 849-856. (in Chinese)

会 议 消 息

会议名称: 首届全国食品生物技术大会

会议时间: 2019年11月29日-12月2日

会议地点: 广州市白云国际会议中心

主办单位: 中国生物工程学会、广州市科学技术协会、广州大学、江南大学

协办单位: 烘焙食品安全粤港创新平台(暨南大学)、华南农业大学食品学院、华南理工大学食品科学与工程学院

会议简介: 随着现代生物技术的快速发展, 生物技术逐渐发展成为包括基因工程、细胞工程、蛋白质工程、酶工程以及发酵工程等学科的综合技术, 在食品领域发挥着越来越重要的作用, 具有广阔的发展前景。食品生物技术作为生物技术的重要组成部分, 是生物技术在食品原料生产、加工和制造中应用的一个重要学科。食品生物技术作为目前食品产业领域最具发展前景的前沿核心技术之一, 其对于有效改变我国食品产业经济增长方式和实现食品产业的可持续发展具有重要意义。2018年11月中国生物工程学会决定正式筹建“中国生物工程学会食品生物技术专业委员会(筹)”, 旨在汇聚食品生物技术领域的科技工作者、科技企业、科技管理和科技服务人员, 构建高层次学术交流和人才培养平台。为进一步贯彻国家《“健康中国2030”规划纲要》, 促进食品生物技术学术交流与合作, 加强我国食品生物技术领域的原始创新能力, 提升我国食品生物技术研究水平和国际影响力, 中国生物工程学会定于2019年11月29日-12月2日在广州举行首届全国食品生物技术大会。

会议内容: 1、中国生物工程学会食品生物技术专业委员会成立大会: 食品生物技术专业委员会第一次会议, 探讨未来一年的工作计划, 并讨论专业委员会未来五年的发展目标和规划; 2、首届全国食品生物技术大会: 以食品生物技术研究进展及未来发展为主题, 就食品生物技术目前国内外研究进展、未来学科发展以及产业驱动进行学术交流。设大会报告、分会场报告、研究生论坛、墙报及论文交流等。

会议网站: <http://hy.castscs.org.cn/conf/index/info/1293>

联系人: 李思齐, 手机: 18998825195 邮箱: zgjlsq@126.com

王玉林, 手机: 18814146238 邮箱: 414852983@qq.com