

家蚕丝氨酸蛋白酶抑制剂4 (serpin-4) 的基因克隆、原核表达和多克隆抗体制备

查宏贤, 刘罡, 张晨, 王彦云, 卫正国, 李兵, 陈玉华, 许雅香, 沈卫德

Cloning, prokaryotic expression and preparation of polyclonal antibody of serine protease inhibitor 4 (serpin-4) from *Bombyx mori*

- [摘要](#)
- [参考文献](#)
- [相关文章](#)

全文: [PDF \(7449 KB\)](#) [HTML \(1 KB\)](#) 输出: [BibTeX](#) | [EndNote \(RIS\)](#) [背景资料](#)

摘要 丝氨酸蛋白酶抑制剂4 (serpin-4) 为丝氨酸蛋白酶抑制剂家族中的一员。本研究旨在研制高效价的家蚕 *Bombyx mori* serpin-4 多克隆抗体, 为深入研究 *serpin-4* 基因的生理功能打下物质基础。首先于家蚕脂肪体中克隆了 *serpin-4* 基因, 利用基因重组技术构建了 pET28a-*serpin-4* 原核表达载体, 经 IPTG 诱导, 获得原核表达重组融合蛋白, 利用镍柱回收纯化技术, 获得目的蛋白; 经 SDS-PAGE 和抗 His 多抗检测, 纯化蛋白的分子量大小与预测的一致, 即获得了高纯度的目的蛋白, 以此蛋白为免疫抗原, 采用 4 次免疫方式对昆明小鼠进行抗原免疫, 最终获得抗 serpin-4 的多克隆抗体血清; 该血清经 ELISA 和 Western blot 验证, 效价达到 1:20 000, 特异性较好。家蚕 serpin-4 多克隆抗体的成功制备, 一方面表明应用于其他生物的多克隆抗体制备所采用的方法对于家蚕 serpin 基因的研究同样适用; 另一方面, 也为深入研究家蚕 serpin-4 的生理功能打下了物质基础。

关键词: 家蚕 丝氨酸蛋白酶抑制剂 基因克隆 原核表达 蛋白纯化 多克隆抗体

Abstract: Serine protease inhibitor 4 (serpin-4) is a member of serine protease inhibitor family. This investigation aims to research and produce high-titer polyclonal antibody against serpin-4 in *Bombyx mori*, which will lay a material foundation to further inquiry the physiological function of *serpin-4* gene. The *serpin-4* gene was first cloned from fat body of *B. mori* and then was cloned into pET28a prokaryotic expression vector by using genetic recombinant technology. The recombinant vector was transferred into *Escherichia coli* and the transferred *E. coli* was induced by IPTG in order to acquire prokaryotic expression recombinant fusion protein which was subsequently purified by Ni column. The molecular weight of the purified protein identified by SDS-PAGE and polyclonal antibody against His-tag was consistent with prediction, indicating that the interest protein with high purity was obtained. The acquired protein was employed as antigen to immunize KM mouse by four separate immunizations and ultimately the polyclonal antibody serum against serpin-4 was achieved. The serum titer validated by ELISA and Western blot was 1:20 000. The successful preparation of polyclonal antibody against serpin-4 in *B. mori* demonstrated that the method applied in other organisms of preparing polyclonal antibody was also applicable to study *serpin-4* gene of *B. mori*, and this study laid a material foundation to further investigate the physiological function of *serpin-4* gene.

Key words: *Bombyx mori* serine protease inhibitor gene cloning prokaryotic expression protein purification polyclonal antibody

收稿日期: 2010-10-25; 出版日期: 2011-06-20

基金资助:

国家现代农业产业技术体系建设家蚕生理生态岗 (CARS-22-ZJ0305)

通讯作者: 许雅香 E-mail: xuyaxiang@suda.edu.cn

作者简介: 查宏贤, 男, 1985年生, 江苏苏州人, 硕士研究生, 主要从事家蚕分子生物学研究, E-mail: mtvtlc@163.com

引用本文:

查宏贤, 刘罡, 张晨等. 家蚕丝氨酸蛋白酶抑制剂4 (serpin-4) 的基因克隆、原核表达和多克隆抗体制备[J]. 昆虫学报, 2011, 54(6): 642-647.

CHA Hong-Xian, LIU Gang, ZHANG Chen 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.

服务

- ▶ [把本文推荐给朋友](#)
- ▶ [加入我的书架](#)
- ▶ [加入引用管理器](#)
- ▶ [E-mail Alert](#)
- ▶ [RSS](#)

作者相关文章

- ▶ [查宏贤](#)
- ▶ [刘罡](#)
- ▶ [张晨](#)
- ▶ [王彦云](#)
- ▶ [卫正国](#)
- ▶ [李兵](#)
- ▶ [陈玉华](#)
- ▶ [许雅香](#)
- ▶ [沈卫德](#)

没有本文参考文献

- [1] 钟金凤, 曹广力, 薛仁宇, 贡成良. 家蚕Aly/REF的基因克隆、序列分析及其细胞定位[J]. 昆虫学报, 2011, 54(7): 746-753.
- [2] 张元臣, 安世恒, 李为争, 郭线茹, 罗梅浩, 原国辉. 烟夜蛾精氨酸激酶基因的克隆及mRNA表达分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(7): 754-761.
- [3] 张天涛, 邹朗云, 李科明, 冯纪年, 张永军, 郭予元. 棉铃虫化学感受蛋白HarmCSP6二聚体的组织表达分析及气味结合特征[J]. 昆虫学报, 2011, 54(6): 615-622.
- [4] 汪生鹏, 孙霞, 沈小娟, 彭伟, 郭锡杰. 家蚕丝素P25蛋白基因启动子顺式作用元件的功能分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(6): 623-633.
- [5] 杨微, 齐登伟, 余泉友, 张泽. 家蚕羧酸酯酶基因*Bmae35*的克隆、序列分析及表达[J]. 昆虫学报, 2011, 54(6): 634-641.
- [6] 杨新影, 李亮, 安世恒, 罗梅浩, 原国辉, 郭线茹. 烟夜蛾谷胱甘肽S-转移酶基因的克隆、序列分析与表达[J]. 昆虫学报, 2011, 54(6): 648-656.
- [7] 林超, 李兵, 王东, 赵国栋, 卫正国, 陈玉华, 沈卫德. 家蚕羧酸酯酶基因BmCarE-9的鉴定与表达分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(5): 495-501.
- [8] 李珣, 刘晶晶, 龚亮, 陈永, 钟国华. 小菜蛾气味受体蛋白PlxyOr83b基因的克隆及表达[J]. 昆虫学报, 2011, 54(5): 502-507.
- [9] 申建梅, 胡黎明, 宾淑英, 林进添. 桔小实蝇肌球蛋白轻链2基因的克隆及表达分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(5): 508-514.
- [10] 王国宝, 陈玉华, 王举梅, 卫正国, 许雅香, 李兵, 沈卫德. 家蚕蛾触角蛋白的双向电泳分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(5): 589-595.
- [11] 王根洪, 祝慧敏, 罗会松, 王轲轲, 杨小波, 蒋亮, 夏庆友. 细菌表达dsRNA介导的家蚕FTZ-F1基因的RNA干扰[J]. 昆虫学报, 2011, 54(5): 596-601.
- [12] 王晓强, 冯伟, 谢洪霞, 周围, 张冉, 高红, 万永继. 柘叶饲养对家蚕消化液中抗核多角体病毒(BmNPV)相关蛋白活性的影响[J]. 昆虫学报, 2011, 54(4): 404-408.
- [13] 李红亮, 张林雅, 倪翠侠, 商晗武. 中华蜜蜂化学感受蛋白AcerCSP3的配基结合功能分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(3): 259-294.
- [14] 申建梅, 胡黎明, 宾淑英, 林进添. 瓜实蝇嗅觉受体基因的克隆及表达谱分析[J]. 昆虫学报, 2011, 54(3): 265-271.
- [15] 周启升, 于奇, 刘庆信. 转基因家蚕的研究进展及应用前景[J]. 昆虫学报, 2011, 54(2): 197-210.