

【作者】	王光川,巴彩凤,苏荣健,张轶博,赵微,宋慧娟,武洁
【单位】	辽宁医学院实验动物中心,辽宁锦州
【卷号】	36
【发表年份】	2008
【发表刊期】	31
【发表页码】	13564 - 13567
【关键字】	犬;黑皮质素受体4;真核表达载体;MDCK 细胞
【摘要】	[目的] 构建带myc 和His 标签的犬黑皮质素受体4 真核表达载体并在MDCK 细胞中进行表达。[方法] 以犬MC4 R 基因组DNA 为模板PCR 扩增目的基因编码区,将扩增产物进行T- A 克隆;酶切、测序鉴定成功后将目的基因亚克隆到真核表达载体pcDNA3 .1- myc- His/ A。重组体pcDNA3 .1-myc- His/ A- cMC4R 经酶切和测序鉴定;采用FuGENE HD 介导转染技术将重组体导入MDCK 细胞;转染后继续培养 72 h,提取细胞内总RNA,RT-PCR 鉴定目的基因的表达;提取细胞总蛋白,Western Blot 检测蛋白表达。[结果] 构建带标签的pcDNA3 .1- myc- His/ A- cMC4R 重组真核表达载体,测序结果与GenBank 公布的序列相似性为99%。RT-PCR 和Western Blot 检测到目的基因表达。[结论] 成功构建犬真核表达载体pcDNA3 .1- myc- His/ A- MC4R,重组体能在MDCK 细胞中表达。
【附件】	 PDF下载 PDF阅读器下载

关闭