

【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