

遗传繁育

牛Nanog基因克隆及其在皮肤成纤维细胞中的表达

郑喜邦^{1, 2}, 云彦¹, 胡勇策¹, 李勇³, 王华岩¹, 窦忠英^{1*}

1. 西北农林科技大学国家干细胞生物技术中心陕西分中心, 杨凌 712100;
2. 广西大学动物科技学院, 南宁 530005; 3. 宁夏大学生命科学学院, 银川 750021

收稿日期 修回日期 网络版发布日期 接受日期

摘要 本研究克隆了牛Nanog 基因, 构建其真核表达载体, 并转染皮肤成纤维细胞, 获得能够用作核移植供核细胞的稳定转染细胞株。从6周龄的胎牛原始生殖嵴中提取总RNA, 通过RT-PCR扩增Nanog 基因, 将其克隆到pMD-18T载体, 再从酶切鉴定和测序正确的质粒上切下目的片段, 定向克隆到pCDNA3-FLAG表达载体上, 挑选序列正确的真核表达质粒pCDNA3-Nanog 转染牛皮肤成纤维细胞, 获得了稳定转染的细胞株。用RT-PCR 和Western Blotting 分别检测Nanog mRNA和FLAG-Nanog融合蛋白的表达, 用免疫染色法验证该细胞株是否具有干细胞特征。结果表明: (1) 从胎牛原始生殖嵴中克隆了序列正确的Nanog 全长编码序列; (2) 所构建的pFLAG-Nanog重组质粒能够在皮肤成纤维细胞中高效表达; (3) 所获稳定转染的细胞株能表达ES 细胞表面抗原SSEA-4 和多能性维持因子Nanog、Oct 4, 表明其具有一定的多能性。为进一步研究Nanog基因功能, 尤其是探讨它在家畜早期胚胎发育、生产转基因动物, 以及胚胎干细胞建系中的作用奠定了基础。

关键词 [牛](#); [Nanog](#) [分子克隆](#) [真核表达](#)

分类号

DOI:

通讯作者:

窦忠英 douzhongying@china.com

作者个人主页: 郑喜邦^{1, 2}; 云彦¹; 胡勇策¹; 李勇³; 王华岩¹; 窦忠英^{1*}

扩展功能

本文信息

- ▶ [Supporting info](#)
- ▶ [PDF\(1470KB\)](#)
- ▶ [\[HTML全文\]\(0KB\)](#)
- ▶ [参考文献\[PDF\]](#)
- ▶ [参考文献](#)

服务与反馈

- ▶ [把本文推荐给朋友](#)
- ▶ [加入我的书架](#)
- ▶ [加入引用管理器](#)
- ▶ [引用本文](#)
- ▶ [Email Alert](#)
- ▶ [文章反馈](#)
- ▶ [浏览反馈信息](#)

相关信息

- ▶ [本刊中 包含“牛; Nanog”的 相关文章](#)
- ▶ 本文作者相关文章
 - [郑喜邦](#)
 - [云彦](#)
 - [胡勇策](#)
 - [李勇](#)
 - [王华岩](#)
 - [窦忠英](#)