

畜牧·资源昆虫

牛Nanog基因真核表达载体构建及有效干扰序列筛选

云彦, 郑喜邦, 刘文强, 窦忠英, 雷安民

西北农林科技大学国家干细胞工程技术研究中心陕西分中心

收稿日期 2008-1-4 修回日期 2008-7-1 网络版发布日期 2008-12-10 接受日期 2008-12-26

摘要

**【目的】**构建牛Nanog基因的真核表达载体pVenus-Nanog, 筛选对其有效的干扰序列。**【方法】**以含有牛Nanog基因的PMD-18T-Nanog重组质粒为模板, 经PCR扩增目的片段, 将其克隆到真核表达载体pVenus上, 酶切及测序鉴定正确后命名为pVenus-Nanog。将pVenus-Nanog用脂质体瞬时转染牛皮肤成纤维细胞, 用荧光显微镜观察、RT-PCR和Western blotting分别检测Nanog的表达情况。针对牛Nanog基因的CDS区设计并合成3对干扰序列, 分别命名为S1、S2、S3及阴性对照N.C., 用脂质体共转染pVenus-Nanog和siRNA于成纤维细胞, 用半定量RT-PCR分析干扰效率。**【结果】**酶切分析与测序结果表明重组载体pVenus-Nanog构建成功, 荧光显微镜观察、RT-PCR和Western blotting结果显示其能够在牛成纤维细胞中高效表达。脂质体共转染pVenus-Nanog和siRNA后, 半定量RT-PCR结果显示S1效果最好, 干扰效率达75%, S2和S3分别为20%和70%。**【结论】**成功构建了牛Nanog真核表达载体pVenus-Nanog, 且获高效表达。通过脂质体共转染法筛选出了牛Nanog基因的有效干扰序列, 为研究该基因在胚胎干细胞及早期胚胎中维持多能性调控网络中的作用机制奠定了基础。

关键词 [牛](#) [Nanog基因](#) [真核表达](#) [RNAi](#)

分类号

DOI:

通讯作者:

雷安民 [anminleiryan@yahoo.com.cn](mailto:anminleiryan@yahoo.com.cn)

作者个人主页:

云彦; 郑喜邦; 刘文强; 窦忠英; 雷安民

## 扩展功能

本文信息

▶ [Supporting info](#)

▶ [PDF](#)(514KB)

▶ [\[HTML全文\]](#)(OKB)

▶ [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”的相关文章](#)

▶ 本文作者相关文章

· [云彦, 郑喜邦, 刘文强, 窦忠英, 雷安民](#)