

## 突变k-ras基因重组腺病毒的构建

Feng ZHAO, Qinghua ZHOU, Yang QIN, Zhiling SUN, Zefang SUN

### 摘要

目的 利用细菌内同源重组法构建含12密码子点突变的k-ras基因重组腺病毒.方法 用限制性内切酶kpn I +xho I 从载体pcDNA3-k-ras 12(Val)中切出12密码子点突变的k-ras基因片断,亚克隆至经同样酶切的腺病毒穿梭质粒pAdTrack-CMV中,形成转移质粒pAdTrack-CMV/k-ras 12(Val),将之Pme I 酶切线性化后与腺病毒基因重组质粒pAdEasy-1共转化大肠杆菌BJ5183,抽提经鉴定含目的基因的重组体质粒,Pac I 酶切后用脂质体转染293细胞,包装成重组体腺病毒Ad-k-ras 12(Val).采用PCR方法对重组体腺病毒进行鉴定,利用穿梭质粒pAdTrack-CMV中带有GFP报告基因,对病毒滴度和感染效率进行监测.结果 利用CaCl<sub>2</sub>法由pAdTrack-CMV/k-ras 12(Val)和pAdEasy-1共转化大肠杆菌BJ5183,可获得25%左右的阳性重组体细菌克隆.PCR检测表明重组腺病毒已含有目的基因,滴度为 $1.2 \times 10^{12}$  pfu/ml.结论 细菌内同源重组法构建腺病毒相比于传统的细胞内同源重组法,具有成功率高、方法简便、快捷、实验周期短的优点,值得进一步推广使用.

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2002.01.04

全文: PDF



## ARTICLE TOOLS

- 索引源数据
- 如何引证项目
- 查找参考文献
- 审查政策
- Email this article (Login required)

## RELATED ITEMS

Related studies  
Databases  
Web search  
 Show all

## ABOUT THE AUTHORS

Feng ZHAO

Qinghua ZHOU

Yang QIN

Zhiling SUN

Zefang SUN