

凋亡抑制蛋白Livin 两种异构体原核表达载体的构建及融合表达

邹爱民,沈建军,高萍,林芳,张惠中

710038 西安,第四军医大学唐都医院中心实验室

Construction of Prokaryotic Expression Vectors for Livin Alpha and Livin Beta

ZOU Ai-min ,SHEN Jian-jun ,GAO Ping ,LIN Fang ,ZHANG Hui-zhong

Central Laboratory , Tangdu Hospital , Fourth Military Medical University , Xi'an 710038 , China

- 摘要
- 参考文献
- 相关文章

全文: PDF (295 KB) HTML (0 KB) 输出: BibTeX | EndNote (RIS) 背景资料

摘要 目的 构建凋亡抑制蛋白Livin两种异构体(Livin α 和 β)的原核细胞表达载体pET32a(+)-livin α 和pET32a(+)-livin β 。方法 设计合成扩增Livin基因异构体全长cDNA序列的特异性PCR引物,以Hela细胞总RNA为模板,RT-PCR获得Livin基因异构体全长cDNA序列,用限制性内切酶BamH I 和HindIII双酶切取所需目的片段,并插入原核表达载体pET32a(+)的多克隆位点,经酶切、PCR鉴定,并经过测序证实后,构建成为Livin基因异构体表达载体(pET32a(+)-livin α 、 β)。将重组质粒转入表达菌株BL21,诱导表达收集菌液,超声碎菌,取其上清和沉淀分别进行SDS-PAGE电泳。结果 成功获得Livin α 和 β 全长cDNA序列,并克隆到原核表达载体pET32a(+)上;成功获得大小为55kd左右的融合蛋白。结论 Livin基因两种异构体原核表达载体的构建及其融合蛋白的制备,为进一步研究Livin异构体功能及在肿瘤细胞中的抗凋亡效应奠定了基础。此蛋白也可用于进一步抗体制备、免疫鉴定和诊断等研究。

关键词: 凋亡抑制蛋白 Livin 凋亡 原核表达

Abstract: Objective To construct prokaryotic expression vectors for Livin α and Livin β and to obtain the fusion protein of pET32a(+)-livin α and pET32a(+)-livin β . Methods Total RNA of Hela cell was extracted. The full-length cDNA of Livin isoforms was gained by RT-PCR. Then inserted into pET32a(+) vector and constructed the recombinant plasmids pET32a(+)-livin α /DH5 α and pET32a(+)-livin β /DH5 α , sequencing was performed to guarantee correct sequence insertion for the isoforms Livin α and Livin β . Reconstructed the recombinant plasmids pET32a(+)-livin α /BL21 and pET32a(+)-livin β /BL21, the pET32a(+)-livin α /BL21 and pET32a(+)-livin β /BL21 plasmids was induced after 4.5 hours by IPTG, and the value of A600nm was 0.6 in LB medium. Expression of the pET32a(+)-livin α /BL21 and pET32a(+)-livin β /BL21 were analyzed by SDS-PAGE. Results Full-length cDNA of Livin α and Livin β was cloned respectively and subcloned into pET32a(+) successfully. Fusion protein of positive recombinants were gained by pET32a(+) prokaryotic expression system. Conclusion The construction of prokaryotic expression vector for Livin α and Livin β and validation of expression in cells provide basis for further research on functions of Livin α and Livin β and their anti-apoptosis effect in cancer cell.

Key words: Inhibitor of apoptosis protein family Livin Apoptosis Prokaryotic expression vector

收稿日期: 2006-07-18;

通讯作者: 张惠中

引用本文:

邹爱民,沈建军,高萍等. 凋亡抑制蛋白Livin 两种异构体原核表达载体的构建及融合表达[J]. 肿瘤防治研究, 2007, 34(6): 409-411, .

ZOU Ai-min, SHEN Jian-jun, GAO Ping et al. Construction of Prokaryotic Expression Vectors for Livin Alpha and Livin Beta[J]. CHINA RESEARCH ON PREVENTION AND TREATMENT, 2007, 34(6): 409-411, .

没有本文参考文献

[1] 牛国晓,李洁. 半枝莲抗肿瘤机制研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2012, 39(2): 231-233.

服务	
把本文推荐给朋友	
加入我的书架	
加入引用管理器	
E-mail Alert	
RSS	
作者相关文章	
邹爱民	
沈建军	
高萍	
林芳	
张惠中	

- [2] 刘瑶;贺兴波;谢军;孟凡;杨建琼;黄才斌 . 5-氮杂-2'-脱氧胞苷对肝癌细胞HepG2凋亡及其PEG10基因表达的影响[J]. 肿瘤防治研究, 2012, 39(1): 9-12.
- [3] 刘磊玉;赵彬佳惠;秦玮;陈媛媛;林锋;邹海峰;于晓光 . 转染PDCD5基因促进顺铂诱导前列腺癌细胞的凋亡作用[J]. 肿瘤防治研究, 2012, 39(1): 32-35.
- [4] 李建厂;贾秀红;唐慎华;韩琳 . Livin 基因在儿童急性白血病中的表达及其意义[J]. 肿瘤防治研究, 2012, 39(1): 41-43.
- [5] 周防震;张晓元;孙奋勇;郭勇 . 二氢杨梅素对人乳腺癌细胞MDA-MB-231的体外抗增殖作用[J]. 肿瘤防治研究, 2012, 39(1): 95-97.
- [6] 卢洁;王春美;盛光耀 . FLT3靶向抑制诱导急性髓细胞白血病细胞凋亡的实验研究 [J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(9): 979-982.
- [7] 汪长林;赵名;于晓处;马健;张琪 . 2-氯脱氧腺苷(2-CDA)对人黑色素瘤细胞系A375生物学性质的影响[J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(9): 986-990.
- [8] 陈香丽;张王刚;王连才;郭建民;张茵;马肖容;田玮 . IFN- γ 对白血病细胞株FBL-3细胞生物学行为的影响 [J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(9): 983-985.
- [9] 孟爱国;刘春艳 . N-马来酰-L-缬氨酸酯姜黄素诱导胃癌MGC-803细胞凋亡的机制 [J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(9): 995-997.
- [10] 袁青;陈晓鹏;黄晓峰;穆士杰;胡兴斌;尹文;张献清 . Apogossypolone诱导前列腺癌PC-3细胞在体外的自噬[J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(9): 1006-1011.
- [11] 周云;黄纯兰;李录克;李晓明 . 威灵仙皂苷对急性早幼粒白血病细胞株NB4细胞的凋亡诱导作用及其机制[J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(8): 881-885.
- [12] 王耕;黄韬;薛家鹏;王明华;惠震 . 三羟异黄酮对人乳腺癌MCF-7/ADM细胞体外抑瘤效应、细胞周期及凋亡的影响 [J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(8): 886-890.
- [13] 陈正言. 食管黏膜癌变过程中组织细胞增殖、凋亡和p53表达的变化 [J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(8): 918-920.
- [14] 刘东岳综述;刘安军审校. T细胞死亡途径及其相关的肿瘤免疫逃避 [J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(8): 963-967.
- [15] 杨凯;贺兼斌;张平 . 白藜芦醇对小鼠Lewis肺癌细胞生长的抑制作用及其机制 [J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(8): 871-874.

鄂ICP备08002248号

版权所有 © 《肿瘤防治研究》编辑部

本系统由北京玛格泰克科技发展有限公司设计开发 技术支持: support@magtech.com.cn