

## 大肠杆菌嘌呤核苷磷酸化酶基因真核表达载体的构建及其在MKN-45细胞中的表达

黄颖; 曹岩; 冷吉燕; 隋玉杰;

吉林大学第二医院中心实验室; 吉林大学第一医院;

### Construction of Eukaryotic Expression Vector Containing E.coli Purine Nucleoside Phosphorylase and Its Expression in MKN-45 Cells

HUANG Ying; CAO Yan; LENG Ji-yan; SUI Yu-jie

1. The Second Hospital of Jilin University; Changchun 130041; China; 2. The First Hospital of Jilin University;

- 摘要
- 参考文献
- 相关文章

全文: PDF (316 KB) HTML (0 KB) 输出: BibTeX | EndNote (RIS) 背景资料

**摘要** 目的克隆大肠杆菌嘌呤核苷磷酸化酶(EPNP)基因并构建真核表达载体pcDNA3.1-EPNP,将重组质粒转染MKN-45细胞获得高表达大肠杆菌PNP基因的MKN-45细胞克隆。方法根据Gen-bank中大肠杆菌PNP基因的核苷酸序列,设计并合成了一对引物,以大肠杆菌基因组DNA为模板,进行PCR扩增,并将扩增产物定向插入pMD-18T克隆载体中进行序列测定,测序正确后将其亚克隆至表达载体pcDNA3.1,利用脂质体将重组质粒转染MKN-45细胞。结果PCR扩增出716bp大小的片段,测序结果与已报道的EPNP基因序列一致;亚克隆经酶切鉴定正确;RT-PCR证明经G418筛选得到的转基因MKN-45细胞克隆中存在大量EPNPmRNA,前体药MePdR对转染EPNP的MKN-45细胞有较强的细胞毒作用。结论成功构建了大肠杆菌PNP基因的真核表达载体,获得了稳定表达大肠杆菌PNP基因的MKN-45细胞克隆,为PNP/MepdR自杀基因系统在胃癌基因治疗中的应用奠定了良好的基础。

**关键词:** 大肠杆菌嘌呤核苷磷酸化酶 自杀基因 基因治疗

**Abstract:** Objective To clone E.coli PNP gene, construct its eukaryotic expression vector and obtain positive MKN-45 cell clones expressing E.coli PNP gene stably. Methods PCR amplification was performed using primers based on E.coli PNP gene sequence from Genbank, E.coli genomic DNA as template .PCR product was inserted into pMD-18T.After the sequencing was confirmed, the gene was subcloned to pcDNA3.1 to construct recombinant eukaryotic expression vector pcDNA3.1-EPNP.The recombinant plasmid was transfected into MKN...

**Key words:** E.coli purine nucleoside phosphorylase Suicide gene Gene therapy

收稿日期: 2005-05-04;

通讯作者: 曹岩

引用本文:

黄颖,曹岩,冷吉燕等. 大肠杆菌嘌呤核苷磷酸化酶基因真核表达载体的构建及其在MKN-45细胞中的表达 [J]. 肿瘤防治研究, 2006, 33(4): 239-241.

HUANG Ying,CAO Yan,LENG Ji-yan et al. Construction of Eukaryotic Expression Vector Containing E.coli Purine Nucleoside Phosphorylase and Its Expression in MKN-45 Cells[J]. CHINA RESEARCH ON PREVENTION AND TREATMENT, 2006, 33(4): 239-241.

没有本文参考文献

- [1] 刘振林;李罡;苏治国;王骏飞;赵玉军;陈镭;刘洪良;姜忠敏;刘晓智. 叶酸/聚酰胺-胺作为miR-7基因载体的胶质瘤靶向性研究[J]. 肿瘤防治研究, 2012, 39(1): 1-5.
- [2] 马玲娣;刘乾;王勇;王仕忠;鲍永仪;关乃富;倪诚;樊小龙. 非小细胞肺癌中CAR和CD46的表达及临床意义[J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(11): 1268-1271.
- [3] 陈绍坤;刘岚;税青林;曾永秋;赵小平;黄燕. siRNA-TRF2对人乳腺癌MCF-7细胞增殖的影响[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(9): 1010-1012.
- [4] 张宝莲;石彬;费学宁. 叶酸受体介导的肿瘤显像和治疗[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(4): 466-470.
- [5] 冯刚;罗利琼;张丽娟;何柳. 转染pCE质粒的干细胞对肝癌治疗的影响[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(12): 1370-1373.
- [6] 王凤岐;赵维明;张诚;金承俊;张子健;钟照华;修有成. IL-12基因联合吡柔比星治疗裸鼠膀胱癌移植瘤的实验[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(11): 1241-1244.

#### 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

- 黄颖
- 曹岩
- 冷吉燕
- 隋玉杰

- [7] 周宏旭;于士柱;王虔;张丽侠;安同岭. 反义封闭MMP-9基因表达对胶质母细胞瘤细胞系增殖的影响[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(10): 1095-1099.
- [8] 宋青凤;方慧娟;熊维宁;徐永健;熊盛道;曹勇. HSV-TK与IL-2共表达真核载体的构建及 其在A549细胞中的表达 [J]. 肿瘤防治研究, 2009, 36(3): 194-197.
- [9] 叶鹏;李著华;杨彦彪;王树人. 肿瘤厌氧靶向双自杀基因治疗系统pTRKH2-PsT/CD、pTRKH2-PsT/UPRT的构建[J]. 肿瘤防治研究, 2009, 36(2): 86-90.
- [10] 齐进春;张勇;黎玮;蔡文清;王亚轩;刘凯隆. hTERT启动子联合HSV-tk/GCV对人前列腺癌裸鼠移植瘤的治疗作用[J]. 肿瘤防治研究, 2009, 36(10): 815-817.
- [11] 黄 坊综述;赵颖海审校. RNAi技术在鼻咽癌研究中的应用进展[J]. 肿瘤防治研究, 2009, 36(1): 73-75.
- [12] 陈绍坤;刘 岚;税青林;曾永秋;赵 娇. 人 TRF2 基因有效 siRNA 序列的筛选[J]. 肿瘤防治研究, 2009, 36(1): 43-46.
- [13] 曹伟军;张桂英;刘霆;何青春;. hTERT启动子调控的融合自杀基因CD:UPRT载体的构建及其应用 [J]. 肿瘤防治研究, 2008, 35(6): 402-405.
- [14] 苏国强;黄宗海;张思宇;. 重组腺病毒介导KDRP-CD/TK基因对大肠癌细胞增殖与凋亡的影响 [J]. 肿瘤防治研究, 2008, 35(3): 173-176.
- [15] 曾赵军;李子博;胡维新;罗赛群;陈迁. 可调控重组腺相关病毒对MCF-7细胞基因转染效率及表达的研究 [J]. 肿瘤防治研究, 2007, 34(9): 667-670.

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