

# 用GAP启动子在毕节酵母中组成型表达人血管抑制素

张爱联<sup>1</sup>, 罗进贤<sup>1</sup>, 张添元<sup>1</sup>, 陈守才<sup>2</sup>, 官文俊<sup>1</sup>

1. 中山大学生物化学系/基因工程教育部重点实验室; 广州; 510275; 2. 华南热带作物学院热带作物生物技术国家重点实验室; 海口 571101

收稿日期 修回日期 网络版发布日期 接受日期

**摘要** 为探索用GAP启动子 (PGAP) 取代AOX1启动子 (PAOX1), 在*P. pastoris*中组成型表达外源蛋白的可能性, 应用PCR方法从毕节酵母染色体中扩增了GAP启动子, 以其取代诱导型表达载体pPIC9K上的PAOX1, 构建了组成型表达载体pGAP9K。将人血管抑制素 (AS) 基因重组于pGAP9K的多克隆位点, 获得含AS基因的重组质粒pGAP9K-AS。转化*P. pastoris* GS115, 对获得的高拷贝转化子*P. pastoris* GS115 (pGAP9K-AS) 进行组成型表达, 同时以诱导型转化子*P. pastoris* GS115 (pPIC9K-AS) 作为对照。SDS-PAGE结果显示: 组成型转化子于培养4 d后AS的表达水平已达到高峰, 分泌量为58 mg/L; 而诱导型转化子诱导4 d后表达的AS仅是组成型表达的70%, 诱导6 d后达到高峰, 表达量也只是组成型表达系统表达高峰时 (4 d) 的86%。CAM分析和抗癌实验结果显示: *P. pastoris* GS115 (pGAP9K-AS) 和*P. pastoris* GS115 (pPIC9K-AS) 表达的AS均具有抑制血管生成和C57BL/6J 实验小鼠的B16黑色素瘤的生长, 其平均瘤重抑制率分别达到90.61%和90.54%。以上结果表明, 以GAP启动子构建的组成型表达系统具有发酵时间较短, 表达水平较高, 不用甲醇诱导, 操作系统比较简单等优点, PGAP可以取代PAOX1在*P. pastoris*中表达AS及其他外源蛋白。

**关键词** [组成型表达](#) [人血管抑制素](#) [毕节酵母](#) [GAP启动子](#) [抗血管生成](#) [抗肿瘤](#)

分类号

1. The Key Laboratory of Gene Engineering of Ministry of Education and Department of Biochemistry; Zhongshan University; Guangzhou 510275; China; 2. National Key Biotechnology Laboratory of Tropical Crops; Haikou 571101; China

## Abstract

**Key words** [constitutive expression](#) [human angiostatin](#) [P. pastoris](#) [GAP promoter](#) [anti-angiogenic antitumor](#)

DOI:

通讯作者

## 扩展功能

### 本文信息

- ▶ [Supporting info](#)
- ▶ [PDF\(312KB\)](#)
- ▶ [\[HTML全文\]\(0KB\)](#)
- ▶ [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](#)
- ▶ [复制索引](#)
- ▶ [Email Alert](#)
- ▶ [文章反馈](#)
- ▶ [浏览反馈信息](#)

### 相关信息

- ▶ [本刊中 包含“组成型表达”的相关文章](#)
- ▶ 本文作者相关文章

- [张爱联](#)
- [罗进贤](#)
- [张添元](#)
- [陈守才](#)
- [官文俊](#)