

【作者】	孔华, 郭安平, 郭运玲, 刘恩平, 章霄云, 贺立卡
【单位】	中国热带农业科学院热带生物技术研究所热带作物生物技术国家重点实验室, 海南海口
【卷号】	34
【发表年份】	2006
【发表刊期】	24
【发表页码】	6460-6462, 6464
【关键字】	轮状病毒; VP4基因; 苧麻
【摘要】	<p>利用套叠PCR技术对轮状病毒外壳抗原蛋白VP4基因进行了定点突变, 将改造后的基因插入pBI121构建植物表达载体。在设计PCR引物时, 引入植物表达载体pBI121具有的克隆位点BamH I和Sac I, 利用BamH I和Sac I切除pBI121 上的GUS基因并使载体质粒线性化, 用同样的2种酶消化质粒TVP4克隆载体获得VP4基因片段, 使之形成与线性化pBI121质粒相同的粘性末端。在T4 DNA连接酶的作用下, 将线性化pBI121质粒和酶切后的VP4基因片段连接成新的重组质粒pBI121/ VP4, 通过直接转化法转化到根癌农杆菌 (<i>Agrobacterium faciens</i>) EHA105菌株中, 获得农杆菌工程菌株。采用叶盘转化法转化苧麻 (<i>Boehmeria nivea</i> L. Guad) 栽培品种圆叶青, 以卡那霉素抗性作为转化植株的筛选标记获得抗性植株。经PCR、PCR Southernblot 分析表明, 初步获得了轮状病毒外壳蛋白VP4的转基因苧麻植株。</p>
【附件】	 PDF下载 PDF阅读器下载

关闭