园艺学报 » 2014, Vol. 41 » Issue (2) :375-381 DOI:

研究简报

筇竹*CBF1*基因的原核表达和多克隆抗体的制备

肖 艳1，林 华2，杨丽娟1，陈世界2，熊泽平3，陈其兵1,*

（1四川农业大学风景园林学院，成都 611130；2四川出入境检验检疫局技术中心，成都 610041；3望江楼公园，成都 610021）

Prokaryotic Expression of *Qiongzhuea tumidinoda CBF1* Gene and Preparation of Its Polyclonal Antibody

XIAO Yan1, LIN Hua2, YANG Li-juan1, CHEN Shi-jie2, XIONG Ze-ping3, and CHEN Qi-bing1,*

（1College of Landscape Architecture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2Technology Center, Sichuan Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Chengdu 610041, China; 3Wangjianglou Park, Chengdu 610021, China）

摘要 以筇竹（Qiongzhuea tumidinoda Hsueh et Yi）叶片为试材，采用RT-PCR方法克隆其CBF1基因，并将CBF1连接到原核表达载体pET32a（+）上，经克隆测序确定所构建的重组载体pET32-QZ开放阅读框正确。将重组载体pET32-QZ转化大肠杆菌Rosetta2（DE3）菌株，经IPTG诱导表达，SDS-PAGE凝胶电泳，考马斯亮蓝染色，证明CBF1蛋白得到了高效表达，所表达蛋白是大小约为45 kD的融合蛋白。经镍柱纯化后作为抗原免疫家兔，制备CBF1蛋白特异性抗血清。所制备的多克隆抗体能够与融合蛋白和经冷诱导的筇竹叶片总蛋白在25 kD处出现杂交条带。上述结果表明，表达的目的蛋白可用于免疫组织化学、蛋白质印迹检测。

关键词： 筇竹 *CBF1* 原核表达 抗血清制备

Abstract： C-repeat binding factor 1 gene（*CBF1*）was amplified by RT-PCR from *Qiongzhuea tumidinoda* Hsueh leaves and cloned into prokaryotic expression vector pET32a（+）. After identification by enzyme digestion and sequencing, the expression of recombinant plasmid carried *CBF1* gene was transformed into Rosetta2（DE3）*E. coli*. Through induced with IPTF, the expression of recombinant protein was analyzed by SDS-PAGE. The results showed that the protein was highly expression in *E. coli*, and the molecular weight of the recombinant protein was 45 kD. After purification with Ni^{2+}-NTA affinity chromatography, the immune reactivity of recombinant CBF1 protein was identified with positive antiserum against nature CBF1 protein specifically by Western-blotting analysis. Antibodies against recombinant CBF1 protein was obtained by subcutaneous injection of rabbit with purified CBF1 recombinant protein, which is specific to the total protein of *Qiongzhuea tumidinoda* Hsueh leaves induced by low temperature. Our results indicate that the recombinant protein can be used for immunohistochemistry and western blot detection.

Keywords： *Qiongzhuea tumidinoda* Hsueh, *CBF1*, prokaryotic expression, antiserum preparation

收稿日期: 2013-09-06; 出版日期: 2013-12-20

引用本文:

肖艳, 林华, 杨丽娟等 .筇竹*CBF1*基因的原核表达和多克隆抗体的制备[J] 园艺学报, 2014,V41(2): 375-381

XIAO Yan, LIN Hua, YANG Li-Juan etc .Prokaryotic Expression of *Qiongzhuea tumidinoda CBF1* Gene and Preparation of Its Polyclonal Antibody[J] ACTA HORTICULTURAE SINICA, 2014,V41(2): 375-381

链接本文:

http://www.ahs.ac.cn//CN/ 或 http://www.ahs.ac.cn//CN/Y2014/V41/I2/375

没有本文参考文献

[1] 李 慧1,2,*，李刚波1,3,*，丛 郁4，常有宏1,2,**，蔺 经1，盛宝龙1.杜梨类钙调磷酸酶B亚基蛋白基因*PbCBL2*的克隆和功能初探[J]. 园艺学报, 2013,40(8): 1445-1455

[2] 杨国峰, 沈文涛, 言 普, 黎小瑛, 周 鹏.原核表达的PRSV HC-Pro 基因同源dsRNA 诱导番木瓜抗性的研究[J]. 园艺学报, 2013,40(7): 1269-1277

[3] 邢爱佳1，马小军2,3,*，莫长明1,3，潘丽梅3,4，韦鹏霄1，唐春风3,4，唐 其3,4,*.罗汉果葡萄糖基转移酶基因的克隆及原核表达[J]. 园艺学报, 2013,40(6): 1195-

[4] 施 艳, 王振跃, 袁 媛, 刘珊珊, 孙 虎, 古勤生.瓜类褪绿黄化病毒*p22* 基因在大肠杆菌中的表达及抗血清的制备[J]. 园艺学报, 2013,40(4): 762-

[5] 陈 秀, 饶雪琴, 阮小蕾, 刘福秀, 李华平.香蕉线条病毒衣壳蛋白功能域基因的原核表达及抗血清制备[J]. 园艺学报, 2013,40(12): 2401-2408
[6] 许俊强, 孙梓健, 宋 明, 汤青林, 王志敏, 王小佳.甘蓝花粉管钙感应蛋白CaM 与SRK 相互作用研究[J]. 园艺学报, 2013,40(12): 2429-2440
[7] 蓝兴国, 李晓屿, 杨 佳, 李玉花.羽衣甘蓝ARC1 蛋白的原核表达、纯化及泛素连接酶活性分析[J]. 园艺学报, 2013,40(12): 2472-2478
[8] 陈新, 梁丽松, 马庆华, 赵天田, 刘庆忠, 王贵禧.平榛脱水素基因的克隆与表达分析[J]. 园艺学报, 2013,40(1): 32-40
[9] 赵芹, 李华平, 谢大森, 何晓明, 张曙光, 罗少波.番木瓜环斑病毒外壳蛋白基因原核表达蛋白的抗血清制备及其检测应用[J]. 园艺学报, 2012,39(8): 1457-
[10] 董银行, 郭家选.葡萄果实**β−**葡萄糖苷酶基因克隆、原核表达及活性检测[J]. 园艺学报, 2012,39(6): 1073-1080
[11] 唐红姝, 刘道凤, 薛璟祺, 欧阳琳, 孙翠慧, 马男, 高俊平.月季乙烯受体基因的全长克隆及原核表达分析[J]. 园艺学报, 2012,39(12): 2421-2430
[12] 隋炯明, 何心凤, 郭真, 李广存, 王晶珊, 郭宝太.马铃薯卷叶病毒缺失突变CP基因的原核表达及抗血清的制备[J]. 园艺学报, 2012,39(10): 1949-1957
[13] 武改霞;李婷婷;孙现超;;青 玲 .温州蜜柑萎缩病毒小外壳蛋白基因克隆与原核表达及其抗体制备[J]. 园艺学报, 2012,39(1): 64-72
[14] 钟 翡;沈欣杰;刘 芳;袁华招;刘兰英;李天红;.甜樱桃DELLA蛋白基因*PaGAI*的克隆与表达分析[J]. 园艺学报, 2012,39(1): 143-150
[15] 李明军;刘 军;梁 东;郭春苗;马锋旺.猕猴桃*GalUR*表达与抗坏血酸积累的关系[J]. 园艺学报, 2011,38(09): 1641-1649