

● 电子杂志  
● 高影响力论文  
● 友情链接  
访问总次数

今日访问

当前在线

刘蔚, 成军, 张连峰, 纪冬, 刘妍, 郭江, 张黎颖. 应用抑制性消减杂交技术筛选rhALR调节基因. 世界华人消化杂志 2004年 10月;12(10):2463-2466

应用抑制性消减杂交技术筛选rhALR调节基因

刘蔚, 成军, 张连峰, 纪冬, 刘妍, 郭江, 张黎颖.

100039, 北京市, 中国人民解放军302医院传染病研究所基因治疗研究中心. [cj@genetherapy.com.cn](mailto:cj@genetherapy.com.cn)

目的: 筛选与克隆重组人肝再生增强因子激活基因, 了解其在体内的调节功能线索及机制. 方法: 应用大肠杆菌系统, 表达、纯化重组人肝再生增强因子蛋白. 刺激HepG2细胞, 以溶剂PH7.8的磷酸盐缓冲液为平行对照, 制备转染后的细胞裂解液, 提取mRNA并逆转录为cDNA, 经Rsa I酶切后, 将实验组cDNA分成两组, 分别与两种不同的接头衔接, 再与对照组cDNA进行两次消减杂交及两次抑制性聚合酶链反应(PCR), 将产物与T/A载体连接, 构建cDNA消减文库, 并转染大肠杆菌进行文库扩增, 随机挑选克隆PCR扩增后进行测序及同源性分析. 结果: 成功构建重组人肝再生增强因子激活基因差异表达的cDNA消减文库. 文库扩增后得到30个阳性克隆, 进行菌落PCR分析, 均得到200-1000 bp插入片段. 对插入片段测序, 并通过生物信息学分析获得其全长基因序列, 结果共获得19种编码基因, 包括15种已知基因和4种未知基因. 结论: 筛选到的cDNA全长序列, 包括一些与细胞生长调节、肿瘤免疫发生及物质代谢密切相关的蛋白编码基因, 推测了重组人肝再生增强因子在体内可能存在的调控机制的线索, 尚需进一步的实验证明.

世界胃肠病学杂志社, 北京百世登生物医学科技有限公司, 100023, 北京市2345信箱, 郎辛庄北路58号院怡寿园1066号

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

E-mail: [wjg@wjgnet.com](mailto:wjg@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

2004-2007年版权归世界胃肠病学杂志社和北京百世登生物医学科技有限公司