中国病理生理杂志 2005 21 (12): 2452-2456 ISSN: 1000-4718 CN: 44-1187/R

论著

应用重组PCR技术构建人单核细胞趋化蛋白-1cDNA的突变体-hμMCP-1(7ND)

仲琳[1],张运[1],张梅[1],季晓平[1],陈文强[1],李大庆[1],张岩[2],张冰[2],杨军[3],刘少荣[3]

1山东大学齐鲁医院心内科，2山东大学医学院分子生物学实验室， 山东 济南 250012；3烟台毓璜顶医院， 山东 烟台 264000

收稿日期 2004-4-19 修回日期 2004-11-23 网络版发布日期 2009-11-26 接受日期 2004-11-23

摘要 目的：探讨用重组PCR技术对人单核细胞趋化蛋白-1（hμMCP-1）基因cDNA进行缺失突变，构建N末端缺失7个氨基酸的编码序列hμMCP-1突变体-hμMCP-1（7ND）cDNA，以期实现7ND基因治疗抑制MCP-1活性。 方法： 根据缺失前后的两段基因片段A和B分别设计两对引物即内引物与外引物，第一轮PCR反应通过每段各自的内外引物，分别获得加有互补末端的A+和B+DNA片段。然后进行第二轮PCR反应，以第一轮PCR产物为模板，加入两外引物，获得大量重组体AB基因片段，将PCR产物与T载体连接，进行酶切鉴定并测序证实成功进行了hμMCP-1的基因改造。为便于表达hμMCP-1突变体，通过EcoR Ⅰ/HindⅢ酶切，将目的基因克隆入pcDNA3.1真核表达载体中。 结果： 经酶切鉴定并测序，表明已成功地构建了hμMCP-1cDNA突变体-7ND的真核细胞表达载体。 结论： 已成功进行了hμMCP-1基因 cDNA的缺失突变，获得了7ND cDNA的克隆，为进一步研究hμMCP-1功能奠定了基础。

关键词 单核细胞化学吸引蛋白质1； DNA； 克隆； 序列

分类号 R363

Construction of human monocyte-chemoattractant protein-1 mutant-7 ND by recombinant PCR

ZHONG Lin[1],ZHANG Yun[1],ZHANG Mei[1],JI Xiao-ping[1],CHEN Wen-qiang[1],LI Da-qing[1],ZHANG Yan[2],ZHANG Bing[2],YANG Jun[3],LIU Shao-rong[3]

1Department of Cardiology, Qilu Hospital,2Department of Biochemistry, Medical College, Shandong University, Jinan 250012, China;3Yantai Yuhuangding Hospital, Yantai 264000, China

Abstract

<FONT face=Verdana>AIM: To construct 7ND-the deletion mutant of human monocyte chemoattractant protein-1 cDNA by recombinant PCR. METHODS: Using pBluescript-hμMCP-1 as template and two synthetic oligonucleotides containing restriction sites suitable for cloing as primers, the deletion mutant was introduced by recombinant PCR. Linking the 2 chains by recombinat PCR and cloning into T vector, the sequence was verified as 7ND cDNA with a length of 342 bp and was inserted into pcDNA3.1 eukarytic expressing plasmid. RESULTS: A recombinant plasmid pcDNA3.1-7ND for cloning human monocyte chemoattractant protein–1 cDNA mutant was successfully constructed. The results of sequencing proved that 7ND was the mutant of human monocyte chemoattractant protein–1, which lacked the N-terminal amino acids 2 through 8. CONCLUSION: A clone of human monocyte chemoattractant protein-1 mutant was obtained by recombinant PCR. This research has paved the way for further study on biological functions of 7ND.</FONT>

Key words Monocyte chemoattractant protein-1 DNA Clone Sequence

DOI: 1000-4718

通讯作者 仲琳 lzhong9188@sina.com

扩展功能

本文信息

Supporting info

PDF(1133KB)

[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“单核细胞化学吸引蛋白质1； DNA； 克隆； 序列”的 相关文章

本文作者相关文章

- 仲琳
- 张运
- 张梅
- 季晓平
- 陈文强
- 李大庆
- 张岩
- 张冰
- 杨军
- 刘少荣