

人肺腺癌TLE1 N端Q结构域片段在原核系统表达纯化及其多克隆抗体的制备

Su WANG, Zhifei XU, Hua TANG, Lingyun WEI, Xuwei ZHAO

摘要






背景与目的 TLE1是参与Wnt、Notch以及EGFR信号通路调控的一种重要蛋白。TLE1 N端Q结构域片段通过介导自身寡聚化及与LEF1结合发挥调控作用。本实验旨在构建人TLE1 N端Q区基因在大肠杆菌的融合表达载体，制备并纯化人TLE1 N端Q结构域蛋白片段，制备TLE1 Q结构域多克隆抗体。方法 以人肺腺癌cDNA库为模板聚合酶链反应（polymerase chain reaction, PCR）特异性扩增TLE1-Q(1-136)基因序列，与pGEX-4T-1质粒连接后转化感受态大肠杆菌E.coli。以异丙基-β-D-硫代半乳糖苷（isopropyl-β-D thiogalactoside, IPTG）诱导表达产生融合蛋白GSTTLE1-Q(1-136)。经亲和层析，Thrombin酶切，FPLC纯化，SDS-PAGE鉴定目的蛋白TLE1-Q(1-136)。免疫家兔，制备多克隆抗体。结果 测序证实重组表达质粒中的人TLE1 N端Q结构域基因序列正确，成功构建表达型重组质粒pGEX-4T1-TLE1-Q。重组质粒转化大肠杆菌C₊后，经诱导，重组蛋白GST-TLE1-Q(1-136)得到表达。SDS-PAGE鉴定示纯化蛋白为目的蛋白人TLE1 N端Q结构域片段TLE1-Q(1-136)。免疫家兔后收获抗血清，ELISA显示抗体效价为1:20 000，具有高度特异性。免疫印迹结果显示，制备的多抗可与TLE1-Q(1-136)蛋白特异性结合。结论 成功构建了人TLE1 N端Q结构域重组融合蛋白表达质粒pGEX-4T1-TLE1-Q，表达纯化了稳定可溶TLE1 N端Q结构域蛋白TLE1-Q(1-136)，制备了人TLE1 N端Q结构域蛋白片段多克隆抗体，为进一步研究TLE1在肺癌生成中的作用奠定了基础。

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2010.11.02

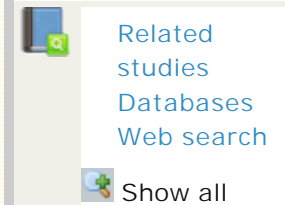
全文: [PDF](#) [HTML](#)



ARTICLE TOOLS

-  [索引源数据](#)
-  [如何引证项目](#)
-  [查找参考文献](#)
-  [审查政策](#)
-  [Email this article](#)
(Login required)

RELATED ITEMS



[Show all](#)

ABOUT THE AUTHORS

Su WANG

Zhifei XU

Hua TANG

Lingyun WEI

Xuwei ZHAO

