

● 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

纪冬, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕, 王春花. 应用抑制性消减杂交技术克隆和筛选丙型肝炎病毒NS3蛋白反式激活基因1的反式调节基因.

世界华人消化杂志 2004年 4月;12(4):843-846

应用抑制性消减杂交技术克隆和筛选丙型肝炎病毒NS3蛋白反式激活基因1的反式调节基因

纪冬, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕, 王春花.

100039, 北京市西四环中路100号, 中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心、全军病毒性肝炎防治研究重点实验室. cj@genetherapy.com.cn

目的: 筛选与克隆丙型肝炎病毒(HCV)NS3反式激活基因1的反式激活基因, 了解其可能存在的调节功能线索. 方法: 应用抑制性消减杂交(SSH)技术及生物信息学(bioinformatics)技术筛选并克隆NS3TP1反式激活的新型靶基因. 以NS3TP1表达质粒pcDNA3.1(-)-NS3TP1转染HepG2细胞, 以空载体pcDNA3.1(-)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pGEM-Teasy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: 成功构建人NS3TP1反式激活基因差异表达的cDNA消减文库. 文库扩增后得到68个阳性克隆, 进行菌落PCR分析, 均得到200-1 000 bp插入片段. 随机挑选其中36个插入片段测序, 并通过生物信息学分析获得其全长基因序列, 结果共获得23种编码基因, 其中3个为未知功能的新基因. 结论: 筛选到的cDNA全长序列, 包括一些与细胞生长调节、物质代谢、免疫及细胞凋亡密切相关的蛋白编码基因, 推测了NS3TP1可能存在的调控机制的线索.

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

<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