

论文

大鼠WAP启动子指导人TPO在真核细胞中瞬时表达

李妍¹, 陈艳¹, 周明乾¹, 周宏伟², 宁云山¹

1. 南方医科大学生物技术学院, 广东 广州 510515;
2. 南方医科大学公共卫生与热带医学学院

摘要:

目的 构建以大鼠WAP启动子调控的人血小板生成素(TPO)真核表达质粒并进行瞬时表达,探讨TPO基因组中不同内含子对TPO表达影响。**方法** 通过基因工程方法构建以大鼠WAP启动子调控的6种TPO真核表达质粒,并通过酶切和测序进行鉴定,将上述重组质粒分别在HC-11和COS-1细胞上转染48 h后,通过双抗体夹心ELISA定量分析转染上清中TPO表达。**结果** 酶切及测序分析表明构建与设计相符,6种重组质粒在COS-1细胞和HC-11细胞中均获得表达,其表达水平从高到低依次为pTPOWE >pTPOWA >pTPOWD >pTPOWB >pTPOWC >pTPOWF,其中含有TPO Intron V的重组质粒pTPOWE表达量最高,而含有TPO全基因组的重组质粒pTPOWF表达量最低。**结论** Intron V可能含有特殊增强TPO表达序列,而TPO基因组中可能存在抑制TPO高水平表达结构元件。

关键词: 血小板生成素 内含子 基因表达 大鼠WAP启动子

Transient expression of human thrombopoietin in cell directed by rat WAP promoter

LI Yan, CHEN Yan, ZHOU Ming-qian, et al

School of Biotechnology, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong Province 510515, China

Abstract:

Objective To study the role of 5'untranslated region(UTR) and introns in human thrombopoietin (TPO) transient expression through TPO eukaryotic expression vectors directed by rat whey acidic protein (WAP) promoter.**Methods** Six TPO eukaryotic expression vectors directed by rat WAP were constructed with gene engineering technology and identified by restriction enzyme and sequencing.The recombinant plasmids were transfected into HC-11 and Cos-1 cells.Forty-eight hours after the transfection, the expression of TPO in supernatant was analyzed with sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).**Results** The recombinant plasmids were constructed as designed.The expression level of 6 recombinant plasmids in HC-11 cells was higher than that in COS-1 cells with the order of pTPOWE,pTPOWA,pTPOWC,pTPOWB,pTPOWD,and pTPOWF from high to low expression.The recombinant plasmid containing intron V showed the highest expression level and the plasmid harboring TPO genome expressed in the lowest level.**Conclusion** The intron V may contain specific sequence enhancing TPO expression and the TPO genome may contain inhibitory elements for TPO expression.

Keywords: thrombopoietin intron gene expression rat WAP promoter

收稿日期 2012-04-11 修回日期 网络版发布日期 2013-06-06

DOI: 10.11847/zgggws2014-30-02-22

基金项目:

国家科委“1035”重大项目(96-901-009);广东省自然科学基金(963011)

通讯作者: 宁云山, E-mail: nys@fimmu.com

作者简介:

参考文献:

- [1] Akkerman JW.Thrombopoietin and platelet function[J].Semin Thromb Hemost, 2006, 32(3): 295-304.
- [2] Okada Y, Nobori H, Shimizu M, et al.Multiple ETS family proteins regulate PF4 gene expression by binding to the same ETS binding site[J].PLoS One, 2011, 6(9):e24837.

扩展功能

本文信息

- ▶ Supporting info
- ▶ PDF(1132KB)
- ▶ [HTML全文]
- ▶ 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
- ▶ 引用本文
- ▶ Email Alert
- ▶ 文章反馈
- ▶ 浏览反馈信息

本文关键词相关文章

- ▶ 血小板生成素
- ▶ 内含子
- ▶ 基因表达
- ▶ 大鼠WAP启动子

本文作者相关文章

- ▶ 李妍
- ▶ 周明乾
- ▶ 周宏伟
- ▶ 王小宁
- ▶ 曾溢滔
- ▶ 宁云山

PubMed

- ▶ Article by LI Yan
- ▶ Article by ZHOU Ming-qian
- ▶ Article by ZHOU Hong-wei
- ▶ Article by et al
- ▶ Article by
- ▶ Article by

- [3] Khanna-A. Regulation and translation of mRNA during myeloid maturation[J]. *Exp Hematol*, 2011, 39(2): 133-141.
- [4] 萨姆布鲁克, 弗里奇, 曼尼阿蒂司. 分子克隆实验指南[M]. 金冬雁, 黎孟枫译, 2版, 北京: 科学出版社, 1992: 765-822.
- [5] 宁云山, 李妍, 周明乾, 等. 内含子和5'非翻译区对血小板生成素基因表达的影响[J]. *第一军医大学学报*, 2004: 24(9): 991-994.
- [6] 宁云山, 李妍, 周明乾, 等. TPO内含子V可显著增强人血小板生成素基因在乳腺细胞中的表达[J]. *中国生物化学与分子生物学杂志*, 2007, 23(7): 537-541.

本刊中的类似文章

1. 王雨, 范美, 高英伟, 伏蓉. 镭对人肝癌细胞增殖及凋亡影响[J]. *中国公共卫生*, 2012, 28(12): 1599-1601
2. 宋艳, 张茂林, 关振宏, 段铭, 张菁. miR-29c真核表达载体构建及鉴定[J]. *中国公共卫生*, 2012, 28(9): 1241-1243
3. 林杰义, 张奕, 罗玮, 查龙应, 毛丽梅. 不同脂肪酸对脂肪细胞脂联素及PPAR γ 基因表达影响[J]. *中国公共卫生*, 2012, 28(4): 493-495
4. 刘书哲, 檀艳丽, 高伟敏, 薛娟, 杨永滨. 金雀异黄素对胶质瘤细胞株细胞生长周期影响[J]. *中国公共卫生*, 2011, 27(10): 1277-1279
5. 刘书哲, 檀艳丽, 高伟敏, 薛娟, 杨永滨. 金雀异黄素对胶质瘤细胞株细胞生长周期影响[J]. *中国公共卫生*, 2011, 27(10): 1277-1279
6. 唐倩, 夏茵茵, 程淑群, 涂白杰. 苯并芘对大鼠海马组织基因表达影响[J]. *中国公共卫生*, 2011, 27(8): 1002-1003
7. 张璐, 翁新楚. 超强静磁场对幼鼠CAT和GSH-Px基因表达影响[J]. *中国公共卫生*, 2011, 27(2): 222-223
8. 高春鹏, 仲来福, 任翔, 姜丽平, 耿成燕, 姚晓峰, 曹军. 线粒体DNA缺失和功能缺失对核基因影响[J]. *中国公共卫生*, 2011, 27(1): 50-51
9. 张辉, 喻莉萍, 李旭, 黄常洪, 胡吉林, 姚飞虹, 李强国. La(Sal) $_2$ (Qu)对重组Fas基因酵母促凋亡作用[J]. *中国公共卫生*, 2010, 26(11): 1357-1359
10. 刘连, 徐园园, 许洁, 黄厚今. 氟对大鼠肝功及GSH-Px基因表达影响[J]. *中国公共卫生*, 2010, 26(5): 647-648
11. 刘永哲, 于雷, 孙世龙, 杨湘山, 武宁, 鞠桂芝. 电离辐射诱发小鼠胸腺淋巴瘤基因表达谱改变[J]. *中国公共卫生*, 2010, 26(2): 222-223
12. 余晓丹, 颜崇淮, 余晓刚, 沈晓明. 生长期缺锌对大鼠海马Egr家族基因表达影响[J]. *中国公共卫生*, 2010, 26(1): 57-59
13. 李述刚, 陶勇, 刘开泰, 钟近洁, 王立杰. 不同人群GSTO1 mRNA表达及与砷甲基化关系[J]. *中国公共卫生*, 2010, 26(1): 69-71
14. 赵军, 路静, 杨洪艳, 黄幼田, 赵继敏, 赵明耀, 赵国强, 张曦, 董子明. DNA聚合酶 β 基因表达对NIH3T3细胞增殖影响[J]. *中国公共卫生*, 2010, 26(1): 106-108
15. 廖明, 吴蕴棠, 孙忠, 谢娟, 王夏, 王永明. 补硒糖尿病大鼠ABCa5基因克隆鉴定与表达[J]. *中国公共卫生*, 2008, 24(12): 1463-1464
16. 徐健, 颜崇淮, 钟乐, 吴胜虎, 余晓丹, 余晓刚, 张燕萍, 沈晓明. 低水平铅暴露对仔鼠海马基因表达影响[J]. *中国公共卫生*, 2008, 24(3): 317-319
17. 陈锋, 刘念周, 何爱桃, 薛金花. 己烯雌酚与人乳腺癌细胞WISP-2基因表达[J]. *中国公共卫生*, 2007, 23(8): 917-919
18. 赵鸿梅, 滕秋艳, 张哲, 于秉治. 小鼠Cdc25B融合蛋白构建和表达[J]. *中国公共卫生*, 2007, 23(8): 976-977
19. 胡权, 张正茂, 张小勇, 张振华, 雷延昌, 周敦金, 黄建国, 杨东亮. 鸭乙型肝炎病毒全基因重组质粒构建及表达[J]. *中国公共卫生*, 2007, 23(5): 562-564
20. 郝晓萌, 吴小兵, 胡贵方, 俞守义. HBV外膜蛋白2型重组腺相关病毒免疫原性[J]. *中国公共卫生*, 2006, 22(11): 1357-1358
21. 赵艳芳, 闫永平, 张磊, 王安辉, 苏海霞, 门可, 张景霞, 徐德忠. Adr亚型乙型肝炎病毒转染细胞模型的构建[J]. *中国公共卫生*, 2006, 22(9): 1066-1068
22. 孙忠, 吴蕴棠, 张万起, 赵娜, 王夏, 王永明. 补锌糖尿病大鼠肝脏糖脂代谢相关基因表达[J]. *中国公共卫生*, 2006, 22(9): 1108-1110
23. 任香梅, 蔡云清, 吴小丽. 镉诱导LLC-PK $_1$ 细胞凋亡对基因表达的影响[J]. *中国公共卫生*, 2006, 22(6): 682-683
24. 孟紫强, 秦国华. 二氧化硫吸入致大鼠肺组织基因表达谱改变[J]. *中国公共卫生*, 2006, 22(3): 274-276
25. 赵艳, 单可人, 杨勤, 李诚秀, 周运书, 吴昌学, 齐艳飞, 官志忠, 程明亮. 燃煤型砷中毒患者金属硫蛋白基因表达[J]. *中国公共卫生*, 2005, 21(12): 1428-1429
26. 杨立伟, 朱惠民, 尹桂山, 孙素菊. DHA和EPA对高碘所致脑损伤的拮抗效应[J]. *中国公共卫生*, 2005, 21(9): 1061-1062
27. 杨义晨, 程金平, 胡卫萱, 王文华, 吴旦, 贾金平. 甲基汞急性暴露下大鼠脑c-fos mRNA表达[J]. *中国公共卫生*, 2005, 21(9): 1074-1075
28. 刘克明, 王春花, 张明月, 管彤, 张力. D-半乳糖致氧化损伤小鼠SOD活力及基因表达[J]. *中国公共卫生*, 2005, 21(4): 449-450
29. 赵清, 舒为群, 高京生, 邱志群, 陈济安. 纯净水对大鼠肝脏LDL-R基因表达的影响[J]. *中国公共卫生*, 2005, 21(3): 275-276

30. 杨学森, 余争平, 张广斌, 余晓东. 电磁辐射致小鼠海马神经细胞基因表达谱差异[J]. 中国公共卫生, 2005,21(2): 159-160
31. 李元锋, 吕波, 詹平. 壬基酚对F1子代大鼠脑组织P450表达的影响[J]. 中国公共卫生, 2005,21(2): 170-171
32. 王春花, 刘克明, 张明月, 刘玉清. SOD基因表达与衰老的相关性[J]. 中国公共卫生, 2004,20(8): 953-954
33. 操敏, 郭恒彬, 郁兴明, 王柏仁, 杨文富, 唐家琪. 恙虫病东方体蛋白基因的原核表达及活性鉴定[J]. 中国公共卫生, 2004,20(7): 769-771
34. 卢次勇, 凌文华, 马静, 唐志红, 吴聪娥. 氧化型低密度脂蛋白诱导内皮细胞基因表达[J]. 中国公共卫生, 2004,20(7): 786-787
35. 戴为民, 李邦印, 于长海, 初向阳, 张开泰. 甲硫腺苷磷酸化酶在非小细胞肺癌中转录表达[J]. 中国公共卫生, 2004,20(7): 815-817
36. 伍忠奎, 余新炳, 吴德, 徐劲, 吴忠道, 王海. 华支睾吸虫GST的新编码基因的克隆与纯化[J]. 中国公共卫生, 2004,20(6): 668-669
37. 李萍, 陈新年, 景涛. 结核杆菌感染对人肺组织 β -防御素的作用[J]. 中国公共卫生, 2003,19(12): 1464-1466
38. 肖元梅, 曾令福, 王舟. 锌对小鼠骨髓造血细胞辐射损伤影响的研究[J]. 中国公共卫生, 2003,19(9): 1081-1083
39. 甘露, 刘琼, 徐辉碧. 硒对大鼠肝脏抗氧化酶活性及基因表达的影响[J]. 中国公共卫生, 2003,19(2): 159-160
40. 逢兵, 金泰虞, 蒋学之. 小鼠肾脏中金属硫蛋白基因诱导表达的时程变化[J]. 中国公共卫生, 2002,18(1): 42-44
41. 林道红, 凌虹, 庄敏, 郭淑元, 马培林, 谷鸿喜. 人乳头瘤病毒16型L1基因重组表达质粒的构建及在E.Coli宿主中的表达与鉴定[J]. 中国公共卫生, 2000,16(10): 875-876
42. 张辉, 喻莉萍, 李旭, 黄常洪, 胡吉林, 姚飞虹, 李强国. La(Sal)₂(Qu)对重组Fas基因酵母促凋亡作用[J]. 中国公共卫生, 2010,26(11): 1357-1359
43. 郝丽萍, 胡学锋, 曲巍, 陈轶英, 周绍良, 毛丽梅, 孙秀发. 乙醇对胰岛 β 细胞功能及胰岛素基因表达影响[J]. 中国公共卫生, 2006,22(7): 773-775
44. 张辉, 喻莉萍, 李旭, 黄常洪, 胡吉林, 姚飞虹, 李强国. La(Sal)₂(Qu)对重组Fas基因酵母促凋亡作用[J]. 中国公共卫生, 2010,26(11): 1357-1359
45. 张辉, 喻莉萍, 李旭, 黄常洪, 胡吉林, 姚飞虹, 李强国. La(Sal)₂(Qu)对重组Fas基因酵母促凋亡作用[J]. 中国公共卫生, 2010,26(11): 1357-1359
46. 张莉, 秦桂秀, 张新华, 刘克战, 吴博威, 刘清华, 焦咪, 范辰辰, 宋瑞瑞, 鲍春丽, 李瑜. 大鼠心脏kir2.2、kir2.3通道重组质粒构建及真核表达[J]. 中国公共卫生, 0,(): 0-0

文章评论 (请注意: 本站实行文责自负, 请不要发表与学术无关的内容! 评论内容不代表本站观点.)

反馈人	<input type="text"/>	邮箱地址	<input type="text"/>
反馈标题	<input type="text"/>	验证码	<input type="text"/> 1605