

## 药物研究

### TOPO克隆构建SAR-CoV M蛋白基因裂殖酵母表达载体及其稳定性

赵林, 蔡金艳, 郑文岭, 马文丽

(广东药学院1.生命科学与生物制药学院; 2.药科学院, 广州510006; 3.华南基因组研究中心, 广州510860; 4.南方医科大学基因工程研究所, 广州510515)

收稿日期 2007-1-29 修回日期 网络版发布日期 2007-6-16 接受日期

**摘要** 目的 利用TOPO克隆法构建SARS-CoV M蛋白基因的裂殖酵母重组表达载体, 并验证重组载体在宿主细胞中的稳定性。方法 运用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)技术从SARS-CoV RNA中扩增出M蛋白基因, AT克隆构建出序列正确的pMD18-T-M重组载体。设计含Kozak序列的引物从pMD18-T-M载体上亚克隆出M蛋白基因, 与裂殖酵母表达载体pNMT1-TOPO进行TOPO克隆, 构建出重组表达载体pNMT1-M, 转化TOP10感受态细胞, 菌落PCR鉴定阳性转化子后进行测序鉴定。将序列正确的pNMT1-M重组载体电转化入裂殖酵母TCP1菌株中, 在EMM培养基中诱导表达, 连续传代100代, 在EMM+T培养基中验证其稳定性。结果 RT-PCR获得666 bp的片段, pMD18-T-M重组载体经测序验证序列正确; 重组表达载体pNMT1-M经菌落PCR和测序鉴定均正确; 重组裂殖酵母菌经诱导后, SDS-PAGE检测出了表达条带; 重组表达载体连续传代后, 未发现丢失现象。结论 成功地构建出了SARS-CoV M蛋白基因的裂殖酵母表达载体, 验证了其在裂殖酵母中能稳定地进行遗传, 为下一步的表达优化、活性和功能研究奠定了基础。

**关键词** [TOPO克隆](#) [SARS-CoV M蛋白基因](#) [表达载体构建](#) [裂殖酵母](#)

**分类号** [R967](#)

**DOI:**

对应的英文版文章: [270089](#)

通讯作者:

作者个人主页: [赵林](#); [蔡金艳](#); [郑文岭](#); [马文丽](#)

## 扩展功能

### 本文信息

- ▶ [Supporting info](#)
- ▶ [PDF \(1387KB\)](#)
- ▶ [\[HTML全文\]\(0KB\)](#)
- ▶ [参考文献\[PDF\]](#)
- ▶ [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](#)

### 相关信息

- ▶ [本刊中 包含“TOPO克隆”的 相关文章](#)
- ▶ 本文作者相关文章
  - [赵林](#)
  - [蔡金艳](#)
  - [郑文岭](#)
  - [马文丽](#)