大肠杆菌内猪生长激素 cDNA 基因表达 产物的免疫电镜观察

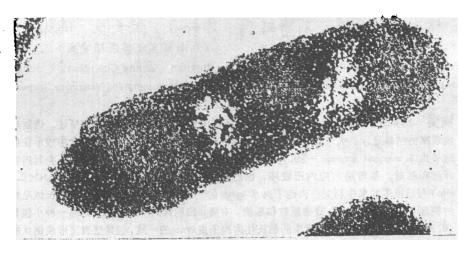
THE LMMUNOELECTRONMICROSCOPY FOR LOCALIZATION OF PRODUCTS EXPRESSED FROM PORCINE GROWTH HORMONE ¢DNA IN ESCHERICHIA COLI

张永清 林庆文* 贾锋 齐顺章 (北京农业大学动物生化表研室)

Zhang Yongqing Lin Qingwen Jia Feng Qi Shunzhang (Lab. off Animal Biochemistry, Beijing Agricultural University)

摘要 本室构建的温度诱导高效表达猪生长激素(pGH)cDNA 基因的工程,pPT15/N4830 的表达效率为 30%左右。相差显微镜下可见表达细菌内有包涵体(inclusion bodies, IBs)存在。高速离心(12 000 g, 10 min)pGH 主要在沉淀内。由于细菌在某些条件下也能产生其他 IB 颗料,为了证实我们见到的 IBs 是由 pGH 的产生而形成的,以及 pGH 在大肠杆菌内的分布情况,我们用免疫胶体金技术对诱导后的大肠杆菌进行了观察。所用的一抗为本室制备的兔抗猪生长激素多克隆抗体(滴度为 32 000),使用时稀释 100倍,所用的二抗是 10 nm 金颗料标记的 SPA(军事医学科学院陈德惠教授惠赠),使用时稀释 20倍。其他操作按常规进行。结果表明。1. 大肠杆菌内产生的 pGH 以 IBs 的形式存在,IBs 的大小不一,平均每个细菌内有 3~4 个 IBs。2. IBs 以外没有观察到 pGH 的存在,这与破细胞离心后上清的免疫印渍(Western blotting)结果相吻合。3. 与文献报道的免疫酶标技术相比,用免疫胶体金技术观察的结果更加清晰。方法简便,容易掌握。

关键词 大肠杆菌;猪生长激素;cDNA;免疫电子显像术 Key words Escherichia coli; Porcine growth hormone; cDNA; Immunoelectronmicroscopy



图版 工程菌 pPT15/N4830 诱导后 3 h 的免疫电镜观察。 金标颗料特异性定位于淡染的 IBs 上×52 k

^{*} 在北京农业大学电竞室工作