

桑蚕金属硫蛋白基因的克隆和表达

蔡向荣 徐泽平 生寿国 薛久光

(青岛三三生物有限公司 青岛 266500)

金属硫蛋白(metallothionein, 简称 MT)是一类广泛存在于生物体内的低分子量蛋白,由 53~62 个氨基酸组成。MT 具有多种生物活性,参与生物体内微量元素的储存、运输、代谢、抗辐射、清除羟基自由基及重金属解毒等多种作用。MT 的生物学功能与 SOD 极为相似,在某些方面优于 SOD。由于 MT 在医学、农业等方面有着重要的应用前景,MT 的基础研究及应用开发研究已成为一个热门课题。

用 BamHI 和 SacI 双酶切带有酵母 MT 基因的质粒 pCM1-1, 获的 MTI 基因片段,用地高辛标记作为探针。提取肥苏蚕卵的总 DNA, 分别用 EcoRI、BamHI 和 HindIII 酶切,与 MTI 探针进行 Southern 杂交,证明有较强的杂交信号。然后用 EcoRI 完全酶切桑蚕的总 DNA, 电泳法回收 1~6kb 的片段,与 EcoRI 酶切的 M13-载体连接,转化受体菌 DH5 α 。采用蓝白菌落筛选法选到 4000 多个转化子,与探针 MTI 进行 Southern 杂交筛选阳性转化子,选择到有较强杂交信号的三个转化子(编号为 pZHC-1, pZHC-5, pZHC-7),用 12 种限制性内切酶对 pZHC-5 重组质粒进行酶切分析表明插入片段约 1.2kb,在基因内靠右边的 EcoRI 位点有一个 HindIII 位点。抗性测定表明,受体菌 DH5 α 在含有 5.0mmol/L CuSO₄培养基上生长,在含有 5.2mmol/L CuSO₄以上的培养基上不生长,而转化子却能在含有 5.2mmol/L CuSO₄以上的培养基上生长。上述研究结果表明 1.2kb 左右的插入片段含有桑蚕的 MT 基因,并在受体菌 DH5 α 中表达。有关桑蚕 MT 基因的序列分析及其高效表达等研究正在进行中。