DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.03.001
第24卷第3期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 3
封2 2002年3月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Mar. 2002

研究快报

文章编号:1000-5404(2002)03-封2-01

人类新基因 *eola*1 全长 cDNA 序列的克隆

Cloning the full-length cDNA sequence of a human novel gene *eola*1

梁自文,杨宗城,罗向东 (第三军医大学附属西南医院烧伤研究所,重庆 400038)

人类基因组计划完成后,功能基因和蛋白质组的研究成为当今生命科学研究的热点[1]。克隆差异表达基因对于深入理解基因功能及阐明重大疾病的发病机制都有极其重要的意义。本文报道了我们最近应用抑制消减杂交(SSH)[2]和cDNA末端扩增技术(RACE)[3]从内毒素(LPS)刺激后人脐静脉内皮细胞中克隆一个人类新基因 *eola*1 全长 cDNA 序列。

1 材料和方法

1.1 细胞培养和LPS处理

培养人脐静脉内皮细胞系ECV304,分成LPS处理组和对照组。LPS处理系在培养基中加入LPS(0111:B4,100 ng/ml)刺激6 h完成。

1.2 SSH

参照Clontech PCR-select cDNA subtraction kit说明书进行SSH。

1.3 RACE

参照TaRaKa 3′- and 5′-Full RACE Core Set说明书进行新cDNA序列3′和5′末端扩增。

2 结果和讨论

经SSH,从LPS刺激人脐静脉内皮细胞差异表达基因消减cDNA文库中,筛选出一个新的表达序列片段(ST55,358bp),作为人类新的表达序列标签(EST)登录到GenBank EST库(No. BM121646)。对该片段进行RACE扩增,获得一个1404 bp的cDNA序列,含poly(A)尾和完整的开放阅读框,编码一个158氨基酸的蛋白质。经同源性比较,与任何已知基因和功能蛋白无明显同源性,作为人类新基因登录到GenBank cDNA全长序列库(No. AY074889)。该基因命名为内皮细胞高表达内毒素相关因子1(Endothelial cell overexpression LPS associated factor 1, *eola*1)。经生物信息学分析,发现 *eola*1 基因编码蛋白EOLA1含螺旋-转角-螺旋(HLH)结构,且与小鼠热休克蛋白转录因子有40%的同源性,推测该基因为人类新的转录因子。目前,我们正在对其功能作进一步研究。

***eola*1 基因 cDNA 序列**

```
1     ggaagagtta  tagacgcgcta  acacctgtca  ctggccactg  gtttccggga  gttagcggca
61    acgaccttgc  agcctggaca  ctagccaggc  gctccdctt   ctcacagcgg  cccacgtctc
121   cttgcttggg  agcccatcgt  cctggctccg  gtggcctcgc  tgggtctcgg  ggaagcagag
181   gactgttcat  tcctgtggcg  aaaagccgga  gtcggcccta  gacacccacg  actcgcaggg
241   tccatggttc  cggaggcgt   gagacctgcc  ggggctgaca  ggtgccagga  cccatgctgc
301   gggagcctgt  gtgctcagcc  ttctaggccc  aggtaaagaa  gctaagtgga  agagtgtttc
361   ctcctctggc  cgtaaagcag  ctgtcccgc   cctactccgg  acgcccccaa  agactccatg
421   ggatggacct  gagtcagccg  aatcccagcc  ccttcccttg  ggcctgctgt  ggtgctggac
481   atcagtgaca  gacggaagca  ggagaccatc  aaggctacgg  gaggcccggg  gcgcttgcga
541   agatgaagtt  tggctgcctc  tcdttccggc  agccttatgc  tggctttgtc  ttaaatggaa
601   tcaagactgt  ggagacgcgc  tggcgtcccc  tgctgagcag  ccagcggaac  tgtaccatcg
661   ccgtccacat  tgctcacagg  gadtgggaag  gcgatgcctg  gcgggagcctg  ctggtggaga
721   gactcgggat  gactcctgct  cagattcagg  ccttgctcag  gaaaggggaa  aagttggtc
781   gaggagtgat  agcgggactc  gttgacattg  gggaaacttt  gcaatgcccc  gaagacttaa
841   ctcccgatga  ggttgtggaa  ctagaaaatc  aagctgtact  gaccaacctg  aagcagaagt
901   acctgactgt  gatttcaaac  cccaggtggt  tactggagcc  catacctagg  aaaggaggca
961   aggatgtatt  ccaggtagac  atcccagagc  acctgatccc  tttggggcat  gaagtgtgac
1021  aagtgtgggc  tcctgaaagg  aatgttccag  agaaaccagc  taaatcatga  caccttcaat
1081  ttgccatcat  gacgcagacc  tgtatacatt  aggttaaatc  tgaatttcca  ctgcttgga
1141  gagtcccacc  cactaagcac  tgtgcatgta  aacaggttcc  tttgctcaga  tgaaggaagt
1201  agggggtggg  gcttttcctg  tgtgatgcct  ccttaggcac  acaggcaatg  tctcaagtac
1261  tttgacctta  gggtagaagg  caaagctgcc  agtaaatgtc  tcagcattgc  tgctaatttt
1321  ggtcctgcta  gtttctggat  tgtacaaata  aatgtgttgt  agatgaaaaa  aaaaaaaaaa
1381  aaaaaaaaaa  aaaaaaaaaa  aaaa
```

关键词:*eola*1 基因;内皮细胞
中图法分类号:523.8

参考文献:

[1] Venter J C, Adams M D, Myers E W, *et al*. The sequence of the human genome[J]. Science, 2001, 291(5 507): 1 304—1 351.
[2] 梁自文,罗向东,杨宗城.低丰度差异转录基因的克隆和高通量筛选[J].国外医学遗传学分册,2001,24(3):172—174.
[3] Souichi O, Florent S, Kinji A, *et al*. Kdap, a novel gene associated with the stratification of the epithelium[J]. Gene, 2000, 256(1): 19—27.

(编辑 冷怀明)

基金项目:国家自然科学基金重点资助项目(39830400)
作者简介:梁自文(1967—),男,四川省彭州市人,博士研究生,主治医师,主要从事内皮细胞激活机制方面的研究,发表论文15篇。电话:(023)68754523
收稿日期:2002-03-05

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net