

噬菌体展示技术

技术简介

噬菌体原本是感染原核生物的病毒,没有天然的真核细胞宿主。1982年 Dulbecco 首次在入噬菌体表面显示病原体与衣壳蛋白的融合,并提出显示 display 的概念。1985年由 Smith 首次通过基因工程手段将已知外源抗原决定簇与噬菌体的次要外壳蛋白 pIII 的 N 端形成融合蛋白展示于噬菌体颗粒表面。并可特异性地被抗体选择出来而不影响重组噬菌体对宿主菌的感染能力。噬菌体展示技术 (phage display technology) 是将外源蛋白或多肽的 DNA 序列插入到噬菌体外壳蛋白结构基因的适当位置,使外源基因随外壳蛋白的表达而表达,同时,外源蛋白随噬菌体的重新组装而展示到噬菌体表面的生物技术。现在已开发出了单链丝状噬菌体展示系统、 λ 噬菌体展示系统、T4 噬菌体展示系统等数种噬菌体展示系统。

技术原理

噬菌体展示技术是将多肽或蛋白质的编码基因或目的基因片段克隆入噬菌体外壳蛋白结构基因的适当位置,在阅读框正确且不影响其他外壳蛋白正常功能的情况下,使外源多肽或蛋白与外壳蛋白融合表达,融合蛋白随子代噬菌体的重新组装而展示在噬菌体表面。被展示的多肽或蛋白可以保持相对独立的空间结构和生物活性,以利于靶分子的识别和结合。肽库与固相上的靶蛋白分子经过一定时间孵育后,洗去未结合的游离噬菌体,然后以竞争受体或酸洗脱下与靶分子结合吸附的噬菌体,洗脱的噬菌体感染宿主细胞后经繁殖扩增,进行下一轮洗脱,经过 3 轮~5 轮的“吸附-洗脱-扩增”后,与靶分子特异结合的噬菌体得到高度富集。

噬菌体展示系统分类

1. 单链丝状噬菌体展示系统

(1) PIII 展示系统。单链丝状噬菌体是单链 DNA 病毒, PIII 是病毒的次要外壳蛋白,位于病毒颗粒的尾端,是噬菌体感染大肠埃希菌所必须的。每个病毒颗粒都有 3 个~5 个拷贝 PIII 蛋白,其在结构上可分为 N1、N2 和 CT 3 个功能区域,这 3 个功能区域由两段富含甘氨酸的连接肽 G1 和 G2 连接。PIII 有 2 个位点可供外源序列插入,当外源的多肽或蛋白质融合于 PIII 蛋白的信号肽和 N1 之间时,该系统保留了完整的 PIII 蛋白,噬菌体仍有感染性;但若外源多肽或蛋白直接与 PIII 蛋白的 CT 结构域相连,则噬菌体丧失感染性,这时重组噬菌体的感染性由辅助噬菌体表达的完整 PIII 蛋白来提供。PIII 蛋白很容易被蛋白水解酶

水解，所以有辅助噬菌体超感染时，可以使每个噬菌体平均展示不到一个融合蛋白，即所谓“单价”噬菌体。

(2) PⅧ展示系统。PⅧ是丝状噬菌体的主要外壳蛋白，位于噬菌体外侧，C端与DNA结合，N端伸出噬菌体外，每个病毒颗粒有2700个左右PⅧ拷贝。PⅧ的N端附近可融合五肽，但不能融合更长的肽链，但有辅助噬菌体参与时，可提供野生型PⅧ蛋白，降低价数，此时可融合多肽甚至抗体片段。

2. λ噬菌体展示系统

(1) PV展示系统。λ噬菌体的PV蛋白构成了它的尾部管状部分，该管状结构由32个盘状结构组成，每个盘又由6个PV亚基组成。PV有两个折叠区域，C端的折叠结构域（非功能区）可供外源序列插入或替换。λ噬菌体的装配在细胞内进行，故可以展示难以分泌的肽或蛋白质。

(2) D蛋白展示系统。D蛋白的分子质量为11 ku，参与野生型λ噬菌体头部的装配。D蛋白以三聚体的形式突出在壳粒表面，当突变型噬菌体基因组小于野生型基因组的82%时，可以在缺少D蛋白的情况下完成组装，故D蛋白可作为外源序列融合的载体，而且展示的外源多肽在空间上是可以接近的。病毒颗粒的组装可以在体内也可以在体外，体外组装即是将D融合蛋白结合到λD-噬菌体表面，而体内组装是将含D融合基因的质粒转化入λD-溶源的大肠埃希菌菌种中，从而补偿溶源菌所缺的D蛋白，通过热诱导而组装。

3. T4噬菌体展示系统

T4噬菌体展示系统是20世纪90年代中期建立起来的一种新的展示系统。它的突出特点是能够将两种性质完全不同的外源多肽或蛋白质，分别与T4衣壳表面上的外壳蛋白SOC（9 ku）和HOC（40 ku）融合而直接展示于T4噬菌体的表面，因此它表达的蛋白不需要复杂的蛋白纯化，避免了因纯化而引起的蛋白质变性和丢失。T4噬菌体是在宿主细胞内装配，不需通过分泌途径，因而可展示各种大小的多肽或蛋白质，很少受到限制。

相关产品推荐

[天然蛋白](#) [重组蛋白](#) [小分子抗原抗体](#)

相关服务推荐

[酵母蛋白表达系统](#) [乳酸菌蛋白表达系统](#) [杆状病毒-昆虫蛋白表达系统](#) [哺乳动物细胞蛋白表达系统](#) [枯草芽孢杆菌蛋白表达系统](#) [小分子抗原的制备及偶联服务](#) [大规模蛋白发酵服务](#) [蛋白纯化服务](#)

Order and Inquiry

You can place an order or Inquiry through the following methods, and we will contact you

ASAP:

QQ 499854788; 82458988

Email info@biotyscience.com

Tel 010-5365 2239