

蛋白重组技术

生物体系中诸多重要的生物学过程如：DNA 合成、基因转录激活、蛋白质翻译、修饰和定位以及信息传导等均涉及到蛋白质复合体的作用。发现和验证在生物体中相互作用的蛋白质与核酸、蛋白质与蛋白质是认识它们生物学功能的关键一步。研究蛋白质的相互作用成为研究蛋白质功能和作用机制的重要的环节之一。如果我们要研究一个蛋白与另一个蛋白或另外一些蛋白是否具有相互作用，首先就要先找到这个蛋白，再从中找到其他相关联的蛋白，来达到我们的实验目的。

蛋白互作网络作用

蛋白质与蛋白质之间相互作用构成了细胞生化反应网络的一个主要组成部分，蛋白-蛋白互作网络与转录调控网络对调控细胞及其信号有重要意义。蛋白质互作网络是由单独蛋白通过彼此之间的相互作用构成，来参与生物信号传递、基因表达调节、能量和物质代谢及细胞周期调控等生命过程的各个环节。系统分析大量蛋白在生物系统中的相互作用关系，对于了解生物系统中蛋白质的工作原理，了解疾病等特殊生理状态下生物信号和能量物质代谢的反应机制，以及了解蛋白之间的功能联系都有重要意义。

蛋白互作常用方法

如今蛋白质间的相互作用已成为生命科学领域研究的重点，而各种蛋白质间相互作用的研究方法的飞速发展成为蛋白质研究的重点。现在常用的技术主要包括几类：酵母双杂交方法、GST-pull down、免疫共沉淀、串联亲和纯化等。根据不同方法的优缺点选择合适的研究技术。

酵母双杂交：利用基因转录所需的转录因子的两个结构域分别与两种蛋白质结合，如果这两种蛋白质之间存在相互作用，那么转录因子的两个结构域就能结合到一起，诱导报告基因表达，通过检测是否有目标基因产物形成，就能判断待检测的两种蛋白质之间是否存在相互作用。

酵母双杂交系统是一种体内方法，用于识别编码蛋白的新基因与感兴趣的蛋白相互作用。该双杂交系统是检测相互作用蛋白的遗传和分子方法，该检测是在体内而不是在体外进行的，这使得检测相互作用蛋白的天然结构成为可能。因此，双杂交系统具有高灵敏度，以检测微弱和短暂的蛋白质相互作用。

免疫共沉淀：一种研究蛋白质之间相互作用的特异性强的研究方法。该技术运用特异性抗体与蛋白特异性结合的原理，通常是蛋白或其复合物与带有标签蛋白的特异性抗体的融合蛋白相互结合，形成蛋白复合体。用试剂将蛋白质复合体进行溶解，再利用通过亲和色谱柱对标签蛋白具有特异吸附作用的特性将蛋白复合体分离纯化出来，之后运用 SDS-PAGE、双向电泳或质谱等技术对分离所获的蛋白进行鉴定。

此方法同样不适用于相互作用蛋白的大规模筛查，但其优势在于能用于确定在生理条件下在细胞或组织内是否存在与目的蛋白能够结合并作用的蛋白质，亦可运用该方法验证蛋白间的相互作用。

串联亲和纯化：用于分离复合蛋白，该技术兼备了免疫共沉淀和标准亲和纯化的优点，成为鉴定和分离蛋白质复合体新途径。该研究方法首先将 TAP 标签整合于该蛋白质的一端，标签由一个钙调蛋白结合多肽与蛋白标签组成，亲和柱上的 IgG 可与 TAP 标签特异性结合，依次在洗脱液和钙离子的协助下，获得高纯度的目的蛋白复合体。

亲和纯化步骤与 Co-IP 一致，但单标签纯化效率低下，而且残留的杂蛋白较多；因此逐渐发展成为双标签纯化。亲和纯化可以采用两种标签组合，但值得注意的是，并没有一种标签组合是百分百理想的。标签的选择主要是根据标签的特性，目的蛋白本身的属性，比如稳定性、可溶性，以及标签与目的蛋白的融合性。将亲和纯化得到的蛋白复合物联合质谱技术进行鉴定。

GST-pull down：将诱饵蛋白的编码基因与 GST 标签整合后表达，表达的融合蛋白经纯化后与有目的蛋白质的溶液孵育。经一定时间的孵育后即会形成 GST-融合蛋白-目的蛋白复合物，并用谷胱甘肽-Sephrose 将其沉淀下来。

GST-pull down 主要有两方面用途：（1）鉴定能与已知融合蛋白质相互作用的未知蛋白质；（2）验证两已知蛋白质之间是否存在相互作用。该方法特异性较强，也较简便，能减少一定的假阳性率，也不需要使用时同位素等危险物质，在研究蛋白质相互作用中应用广泛。但该方法不适用于大规模筛查相互作用的蛋白，除此之外，活性融合蛋白的量及避免内源性诱饵蛋白干扰是该方法成功的关键。

相关产品推荐

[天然蛋白](#) [重组蛋白](#) [小分子抗原抗体](#)

Order and Inquiry

北京百欧泰生物科技有限公司

Tel: 010-5365 2239 Email: info@biotyscience.com

Address: 北京市房山区良乡凯旋大街建设路 18 号

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