

# 微生物学报

## ACTA MICROBIOLOGICA SINICA

期刊介绍

投稿须知

编委会

学科先贤

下载专区

常见问题

广告服务

友情链接

### 串联亲和纯化原核表达载体的构建

### Construction of prokaryotic expression vectors for tandem affinity purification

投稿时间: 2011-9-29 最后修改时间: 2011-12-20

中文关键词: [关键词: 原核表达载体, 串联亲和纯化, 蛋白相互作用](#)

英文关键词: [Keywords: prokaryotic expression vector tandem affinity purification protein-protein interactions](#)

基金项目: 国家自然科学基金 (30970122)

作者	单位	E-mail
<a href="#">魏波</a>	<a href="#">内蒙古农业大学兽医学院, 呼和浩特010018</a>	<a href="mailto:E-mail:yue_junjie@126.com">E-mail:yue_junjie@126.com</a>
<a href="#">廖翔</a>	<a href="#">军事医学科学院生物工程研究所, 北京100071</a>	
<a href="#">周围</a>	<a href="#">军事医学科学院生物工程研究所, 北京100071</a>	
<a href="#">高原</a>	<a href="#">军事医学科学院生物工程研究所, 北京100071</a>	
<a href="#">王羽</a>	<a href="#">军事医学科学院生物工程研究所, 北京100071</a>	
<a href="#">冉金宝</a>	<a href="#">军事医学科学院生物工程研究所, 北京100071</a>	
<a href="#">梁龙</a>	<a href="#">军事医学科学院生物工程研究所, 北京100071</a>	
<a href="#">岳俊杰</a>	<a href="#">军事医学科学院生物工程研究所, 北京100071</a>	
<a href="#">呼和巴特尔</a>	<a href="#">内蒙古农业大学兽医学院, 呼和浩特010018</a>	

摘要点击次数: 52

全文下载次数: 25

中文摘要:

摘要: 【目的】构建串联亲和纯化原核表达载体, 用于研究细菌中(生理状态或接近生理条件下的)蛋白-蛋白相互作用。【方法】设计并合成两条串联亲和和标签序列, 分别可以在靶蛋白N端和C端融合Protein G和链亲和素结合肽(Streptavidin binding peptide, SBP)标签;以pUC18载体为骨架, 去除原有的阻遏蛋白基因, 构建组成型表达载体pNTAP和pCTAP。【结果】成功构建N端和C端标签表达载体pNTAP和pCTAP, 它们在大肠杆菌(Escherichia coli)BL21(DE3)、肠出血性大肠杆菌O157:H7和痢疾杆菌福氏5型M90T菌株中都可以实现表达。【结论】本实验构建的两个串联亲和纯化表达载体可以在部分革兰氏阴性细菌中表达, 为研究细菌内蛋白-蛋白相互作用及致病菌毒力蛋白的作用机制奠定了基础。

英文摘要:

Abstract: [Objective] To construct prokaryotic expression vectors suitable for tandem affinity purification to study protein-protein interactions in bacteria. [Methods] Two tandem affinity tag sequences, including the coding sequences of Protein G and streptavidin binding protein (SBP), as the N- and C- terminus of fusion proteins were designed and de novo synthesized. Constitutive expression vectors pNTAP and pCTAP were constructed using pUC18 as the backbone deleted of the lacI gene. [Results] Two expression vectors pNTAP and pCTAP were successfully constructed. pNTAP showed substantial expression of the built-in tag protein GFPuv not only in Escherichia coli BL21 (DE3) but also in enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 and Shigella flexneri 5a. [Conclusion] Of the two recombinant expression vectors successfully constructed, pNTAP can express the model protein for tandem affinity purification and could be used for studies of protein-protein interactions in some gram-negative pathogenic bacteria such as Escherichia coli and Shigella flexneri.

魏波, 廖翔, 周围, 高原, 王羽, 冉金宝, 梁龙, 岳俊杰, 呼和巴特尔. 串联亲和纯化原核表达载体的构建. 微生物学报, 2012, 52(3): 374-380

[查看全文](#) [查看/发表评论](#) [下载PDF阅读器](#)

地址：北京朝阳区北辰西路1号院3号中科院微生物所内 邮编：100101  
收信(款)人：《微生物学报》编辑部  
电话：010-64807516 传真：010-64807327 电子信箱：[actamicro@im.ac.cn](mailto:actamicro@im.ac.cn)

本刊全文数据库版权所有，未经许可，转载、链接及印刷或制作光盘都属违法，本刊将保留追究法律责任的权利