

重组人CK2 β 亚基的原核表达、纯化与鉴定

Prokaryotic Expression, Purification and Characterization of Recombinant Human Protein Kinase CK2 β Subunit

投稿时间: 1999-3-30 最后修改时间: 1999-8-16

稿件编号: 20000224

中文关键词: [人蛋白激酶CK2 \$\beta\$ 亚基](#) [表达载体pT7-7](#) [原核表达](#) [蛋白质纯化](#) [酶动力学分析](#)

英文关键词: [human protein kinase CK2 \$\beta\$ subunit](#) [expression vector pT7-7](#) [prokaryotic expression](#) [protein purification](#) [enzyme kinetic analysis](#)

基金项目: 国家自然科学基金(39870900)和广东省高教厅重点学科经费资助项目.

作者	单位
刘新光	广东医学院生物化学与分子生物学研究所, 湛江 524023
梁念慈	广东医学院生物化学与分子生物学研究所, 湛江 524023
马润泉	广东医学院生物化学与分子生物学研究所, 湛江 524023

摘要点击次数: 95

全文下载次数: 7

中文摘要:

将构建成功的人蛋白激酶CK2 β 亚基cDNA的重组质粒, 转化大肠杆菌BL21 (DE3), 在IPTG诱导下表达. 表达蛋白大多数以不溶形式存在. 6L(约10.2 g)表达菌抽提得到约20 mg的可溶性表达产物, 通过P11磷酸纤维素一步层析分离, 得到6.8 mg纯化蛋白. SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳结果显示纯化的蛋白为一分子质量26 ku的单一蛋白带. 蛋白质印迹结果证明: 纯化的表达产物与抗人CK2 β 抗体可发生特异性免疫反应. CK2 β 亚基对CK2 α 有激活作用, 纯化的CK2 α 和 β 亚基在等摩尔混合时即可组成有最大生物活性的全酶. 实验结果有力地证明了克隆表达与纯化的重组蛋白是人蛋白激酶CK2 β 亚基.

英文摘要:

Protein kinase CK2 is a heterotetramer ser/thr protein kinase composed by two catalytic subunits (α or α') and two regulatory subunits (β). The recombinant plasmid containing human CK2 β subunit cDNA was transformed into *E. coli* BL21(DE3) and expressed induced by IPTG. Most of the expressed CK2 β proteins were insoluble. From 6 L (about 10.4 g) bacteria, 20 mg soluble protein was extracted from the insoluble pellet and purified by a single step P11 phosphocellulose chromatography, the yield of purified CK2 β subunit was 6.8 mg. SDS-PAGE analysis of the purified protein showed only one band with molecular mass of 26 ku. Western blot analysis confirmed that the expressed product was human CK2 β subunit. Addition of the CK2 β subunit to CK2 α subunit led to maximum stimulation at a 1:1 molar ratio of both subunits. These results demonstrated strongly that the cloned, expressed and purified recombinant protein was human CK2 β subunit. The large amount of purified recombinant CK2 β protein lays solid basis for further study directly the characteristics of the enzyme and the relationship of structure and function between CK2 β subunit and its interacted proteins.

[查看全文](#)

[关闭](#)

[下载PDF阅读器](#)

您是第368458位访问者.

主办单位: 中国科学院生物物理研究所和中国生物物理学会 单位地址: 北京市朝阳区大屯路15号
服务热线: 010-64888459 传真: 010-64889892 邮编: 100101 Email: prog@sun5.ibp.ac.cn
本系统由勤云公司设计, 联系电话: 010-62862645, 网址: <http://www.e-tiller.com>
京ICP备05002794号