

实验研究报道

甲基CpG结合域四聚体蛋白的原核表达、纯化及鉴定

朱小华, 李锋, 陈国梁, 杨永生, 林尽染, 徐金华[△], 项蕾红

复旦大学附属华山医院皮肤科, 上海200040

收稿日期 2008-6-4 修回日期 网络版发布日期 接受日期

摘要

目的 在大肠埃希菌中表达甲基CpG结合域四聚体蛋白, 并对其进行纯化和鉴定。方法 将重组表达质粒4×MBD-pET30b+转化大肠埃希菌DH5a克隆扩增并测序鉴定后, 转化大肠埃希菌BL21 (DE3) 后接种于LB 培养基中, 异丙基硫代半乳糖苷 (IPTG) 诱导重组蛋白的表达, 表达产物经Ni-NTA亲和层析纯化, 通过SDS-PAGE和Western blot鉴定蛋白表达, 用此蛋白免疫染色人胚肾细胞后用荧光显微镜观察。结果 克隆质粒测序结果与理论预期完全一致, SDS-PAGE显示在大肠埃希菌中表达出相对分子量为46 000的目标蛋白, Western blot显示目标蛋白带有His融合标签 (氨基端) 和HA标签 (羧基端)。荧光显微镜观察显示MBD蛋白能与细胞内的甲基化CpG基序特异性结合。结论 成功表达并纯化了具有免疫原性的甲基CpG结合域四聚体蛋白, 为今后进一步研究DNA甲基化奠定了基础。

关键词 [甲基CpG结合域](#); [原核表达](#); [蛋白纯化](#); [DNA甲基化](#)

分类号

DOI:

通讯作者:

徐金华 xjhhs@medmail.com.cn

作者个人主页:

朱小华; 李锋; 陈国梁; 杨永生; 林尽染; 徐金华[△]; 项蕾红

扩展功能

本文信息

- ▶ [Supporting info](#)
- ▶ [PDF \(3565KB\)](#)
- ▶ [\[HTML全文\] \(OKB\)](#)
- ▶ [参考文献 \[PDF\]](#)

参考文献

服务与反馈

- ▶ [把本文推荐给朋友](#)
- ▶ [加入我的书架](#)
- ▶ [加入引用管理器](#)
- ▶ [引用本文](#)
- ▶ [Email Alert](#)

相关信息

- ▶ 本刊中 包含 “[甲基CpG结合域; 原核表达; 蛋白纯化; DNA甲基化](#)” 的 [相关文章](#)
- ▶ 本文作者相关文章
- [朱小华, 李锋, 陈国梁, 杨永生, 林尽染, 徐金华, 项蕾红](#)