

裂解之前加入 N- 十二烷基肌氨酸钠和 EDTA 以溶解蛋白, 然后澄清裂解物并在使用 Glutathione Sepharose 纯化前加入 Triton X-100。这种处理方法可以有助于在亲和层析纯化之前增加融合蛋白的可溶性。N- 十二烷基肌氨酸钠与 Triton X-100 的比例要根据经验来确定, 其目的是对蛋白质的可溶性以及其对 Glutathione Sepharose 的结合两方面进行优化。

结论

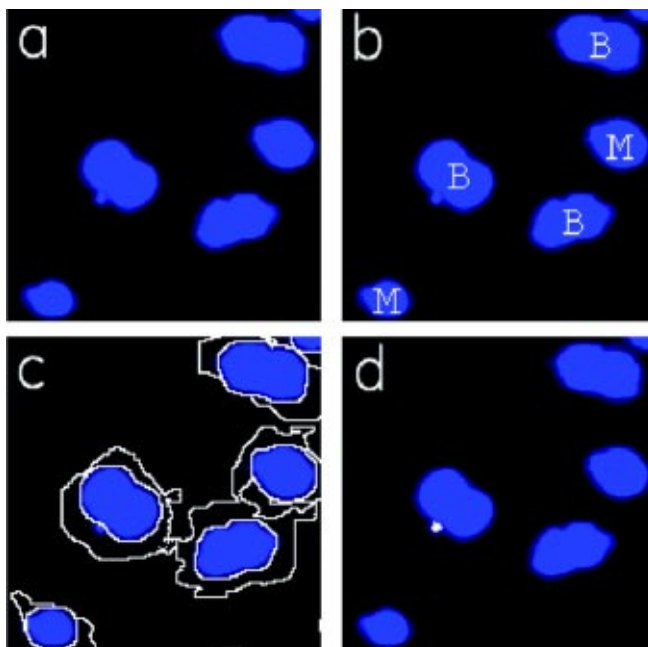
在大肠杆菌中成功地表达任何外源融合蛋白都要取决于多种条件, 这些条件的总结是使我们能够高效获得一种可溶性蛋白质, 而且在整个表达和纯化过程中不改变这些可溶性蛋白质的免疫原性和生物功能。获得融合蛋白质最佳产量所要求的条件需要根据对每种融合结构的经验来确定, 而且还可能需要对多种生长和表达参数进行研究。

参考文献:

1. Ausubel, F. M. et al., eds. Current Protocols in Molecular Biology Vol. 2, 16.0.1 (1996).
2. Smith, D. B. and Johnson, K. S., Gene 67, 31-40 (1988).
3. Baker, T. A. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 81, 6779-6783 (1984).
4. Strauch, K. L. and Beckwith, J., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 85, 1576-1580 (1988).
5. Grodberg, J. and Dunn, J. J., J. Bacteriol. 170, 1245-1253 (1988).
6. Sugimura, K. and Higashi, N., J. Bacteriol. 170, 3650-3654 (1988).
7. Schein, C. H., Bio/Technology 7, 1141 (1989).
8. Frangioni, J. V. and Neel, B. G., Anal. Biochem. 210, 179-187 (1993).
9. Amersham Biosciences Science Tools 2⁽²⁾, 26 (1997).
10. GST Gene Fusion System Manual (货号 18-1123-20), Amersham Biosciences, 1997. Life Science News 1, 1998.

- 自动分析和精确计算微核体形成
- 快速和精确进行大规模遗传毒性化合物筛选
- 适用于早期药物研发, 节省时间和原料

微核体形成分析在新药毒性筛选过程十分重要, 它检测遗传毒性化合物在染色体分离过程中引起的 DNA 链断裂或干扰。手动计数微核体形成取决于操纵者的经验, 可能分析一个化合物需时二周, 而且多在药物筛选的后期进行。如果用 IN Cell Analyzer 系统结合微核体形成分析软件单元进行微核体形成分析检测, 完成一个 96 孔板检测只需数分钟。在该系统支持下, 可在药物研发的早期快速和精确进行大规模遗传毒性化合物筛选。



微核体识别。(a)Hoechst 核染色(b)双核分离
(c)微核体检测时的边缘测定(d)白色显示的微核体轮廓

详细信息请参阅 www.gehealthcare.com/incell