



# 膜蛋白的表达也能轻松实现

膜蛋白在细胞间接触、表面识别、信号转导、酶活性和运输方面都扮演着重要的角色。由于它们功能多样，也就成为理想的药物靶点。然而，对于膜蛋白的研究一直是很有挑战性的，因为它们的表达对细胞来说可能是毒性的，或者是表达中形成包涵体，因此蛋白产量不高，而反反复复的优化又相当耗费时间。缺乏理想的实验手段像一座屏障拦住了许多研究者。

不过技术总在进步，新产品也不断涌现。Invitrogen 最近就推出了 MembraneMax™ 蛋白表达试剂盒，帮助你克服以上的挑战，得到高产量可溶性的膜蛋白。它的秘密武器就在于其中专利的 MembraneMax™ 试剂。

**MembraneMax™ 试剂** (图 1 左上) 与细胞膜有点类似，是优化的脂-蛋白配方，包含纳米脂蛋白颗粒 (nanolipoprotein particles, NLPs)。NLPs 是圆盘形的颗粒，直径约为 10nm，外环是一种专利配方的支架蛋白，中间是脂双层。它提供了与细胞内相似的环境，帮助膜蛋白正确折叠 (图 1 右下 膜蛋白嵌在其中)，避免了蛋白聚集，同时也省去了反复优化的繁琐步骤。与 Invitrogen 的 Expressway 体外表达系统结合，MembraneMax™ 试剂就能生产出微克至毫克级的可溶膜蛋白。在蛋白合成结束之后，膜蛋白可以从脂双层的任一侧取出。

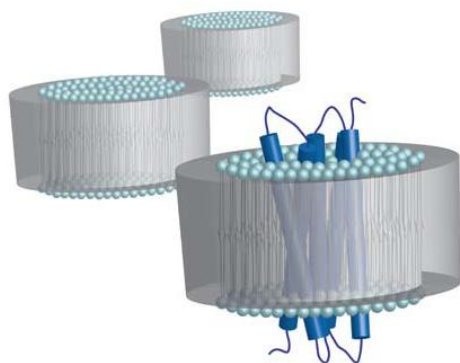


图 1 MembraneMax™ 试剂

## 高产量 Invitrogen 利用

MembraneMax™ 蛋白表达试剂盒试验了多种不同大小 (8-51kDa) 和复杂度 (2-7 个跨膜结构域) 的膜蛋白表达，如血型糖蛋白、细菌视紫红质等，发现大部分蛋白产量都大于 0.1mg/ml，这对于很多下游应用来说都是足够的。

**蛋白可溶性增强** 蛋白表达中最常见的问题就是重组蛋白可溶性低，经常以包涵体形式出现，对于膜蛋白来说尤其如此，因为它拥有多个亲水和疏水结构域以及复杂的折叠元件。MembraneMax™ 试剂则提供了一个更好的环境，帮助膜蛋白正确折叠。

**操作简便** 将编码膜蛋白的基因克隆到 T7 大肠杆菌表达载体上，然后将载体与大肠杆菌提取物、MembraneMax™ 试剂混合，孵育 2 小时，就可以进行纯化了 (图 2)。一天之内你就能得到毫克级的可溶膜蛋白了。操作非常简单，因此很容易升级到多个样品的高通量表达筛选或某个膜蛋白的大规模生产。试剂盒中包含了表达所需的所有组分和对照载体，不过不包含表达载体和检测用的抗体，以及纯化试剂，需要单独订购。

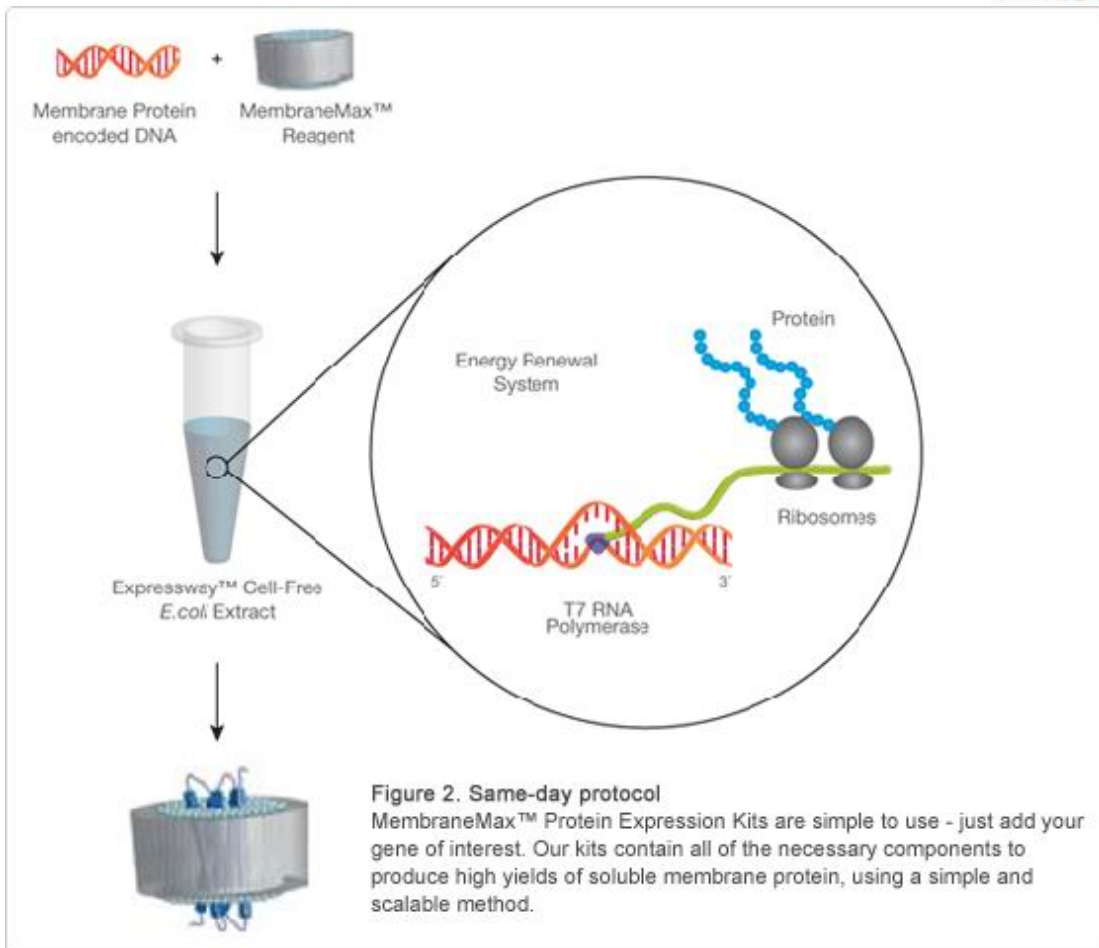


图 2 实验步骤概览

MembraneMax™试剂有两种形式：

native MembraneMax™和 His-tagged MembraneMax™。His-tagged MembraneMax™试剂包含 His 标签，因此你无需在膜蛋白上加标签，都可以很轻松地进行纯化。而如果你的膜蛋白本身已经带有了 His 标签，就不能用这种了，要用 native MembraneMax™。

MembraneMax™蛋白表达试剂盒的优

势：

- 可溶性和单分散膜蛋白的生产
- 通过无细胞表达系统得到微克至毫克级的膜蛋白
- 天然蛋白和有标签的蛋白都可以很方便地纯化和富集
- 表达有毒性的膜蛋白
- 膜蛋白的合成反应简单，很容易扩展到高通量应用