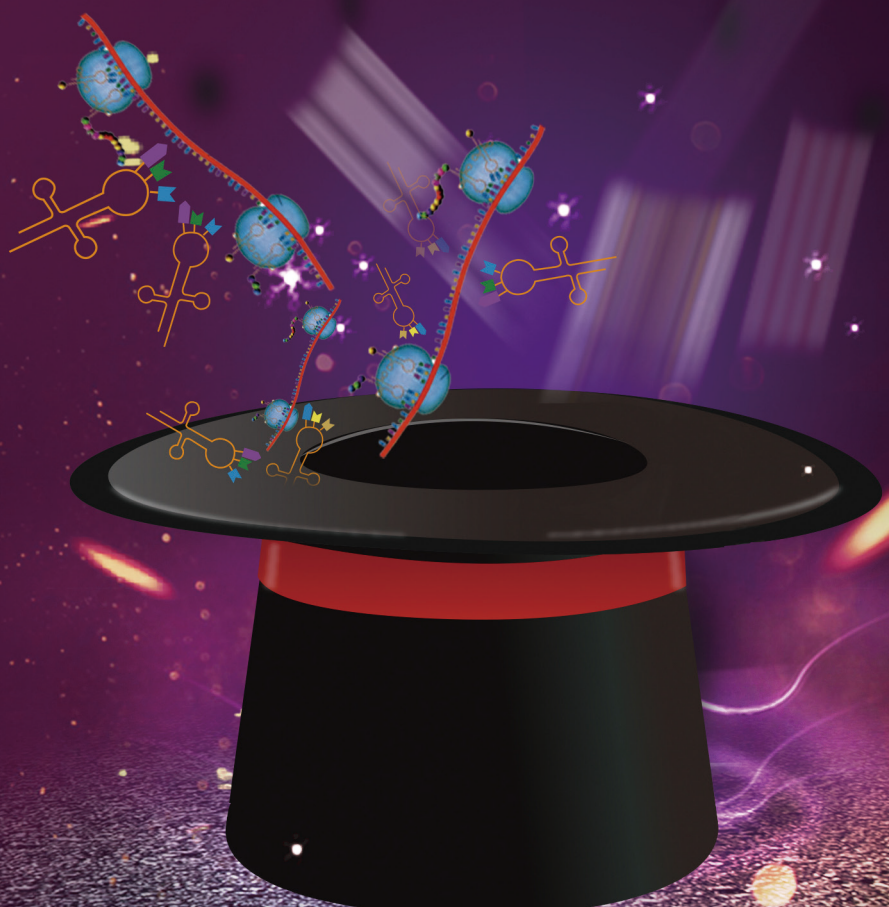
08 蛋白表达及检测

CFS无细胞蛋白表达系统，让蛋白表达变得更快更轻松。仅需2-24小时，即可完成表达。最大表达量达到 1 mg/6 ml 反应体系，绝大多数表达蛋白具有天然活性。突破传统细胞表达极限，可以实现大分子蛋白，毒蛋白，膜蛋白及不溶性蛋白的表达。



无细胞蛋白表达系统简介

蛋白表达技术广泛应用于蛋白结构解析、蛋白互作研究和蛋白功能研究等实验课题上，是分子生物学实验中常用的技术之一。传统的蛋白表达大多采用细胞体系，如大肠杆菌表达体系、酵母表达体系、昆虫表达体系等，但不同细胞体系表达存在不同问题，如表达时间长、蛋白产量低、折叠不正确、形成不溶的包涵体等问题，而且对于膜蛋白和毒性蛋白不能正常表达。

Cell-Free System（CFS）无细胞蛋白表达技术，利用含有蛋白合成所需的所有组分（tRNA、氨基酸、酶、辅助因子、离子环境等）的麦胚提取物，以 PCR 片段或载体为模板进行体外蛋白表达。CFS 不受细胞内的组分（宿主 DNA/RNA、蛋白酶等)、细胞承受能力和生长代谢情况的影响，可以在短时间内完成大量蛋白的表达，同时能够使蛋白保持的天然结构和活性。

该系统应用至今，已成功表达多种蛋白。人类基因与蛋白数据库（Human Gene and Protein Database, HGPD）以 CFS 为蛋白合成方法，已成功合成 19712 种人类蛋白（Nucleic Acids Research, 2012 Jan; 40(D1): D924–9）。此外，对于其他不同物种来源的蛋白都能成功表达。

拟南芥	蛋白激酶	500	小鼠	蛋白激酶	300
	蛋白磷酸化酶	86		转录因子	900
	转录因子	750		蛋白酶	180
	蛋白酶	50		膜蛋白	180
人类	蛋白激酶	300		自身抗原	240
	蛋白磷酸化酶	80	疟原虫		1000
	转录因子	900	病毒		70
	核受体	38	原核生物		300
	蛋白酶	75			
（Nature Methods 2008,5,1011-1017）					

无细胞蛋白表达系统与传统的细胞内表达系统相比，无需筛选、培养和诱导，大大简化了操作步骤，能够在短时间内完成从模板到目的蛋白的全部实验。此外，体外表达没有生理限制，显著的提高了具有功能性、可溶性、全长蛋白的总体产量，并且能够实现磷酸化修饰，不受蛋白毒性影响。该系统十分适合激酶、膜蛋白和蛋白的表达，对于大分子蛋白和毒蛋白等常规细胞内表达系统无法表达的蛋白具有良好的表达效果。CFS 是真正的“开放”系统，具有超高的自由度，可以在体系中加入去污剂、金属离子等添加剂以促进蛋白复合体的组装，提高蛋白的活性；可以通过修饰的 tRNA 在特定位点插入非天然氨基酸标记；更能同时在同一体系中表达多个蛋白，模拟蛋白互作的情况。CFS 表达的蛋白可广泛用于蛋白质结构和功能分析等各类下游实验。

无细胞蛋白表达系统特点

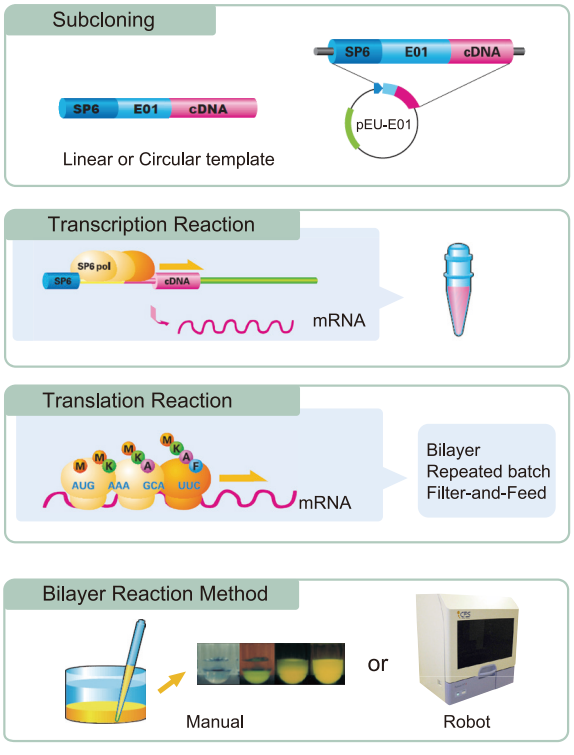
- 表达快速：只需 2-24 小时即可完成实验
- 操作简便：只需加入模板、提取物和底物即可开始表达，像做 PCR 一样简单
- 普适性强：突破传统细胞内表达的极限，实现大分子蛋白、毒蛋白、膜蛋白及不溶蛋白的表达
- 表达量高：表达量可达 1 mg/6 ml 反应体系，满足各类实验需要
- 自由度高 ：可根据需求添加蛋白酶抑制剂、稀有密码子、金属离子等添加剂，或进行 tRNA 修饰和氨基酸标记等
- 状态天然：绝大多数表达出的蛋白具有天然的结构和活性
- 蛋白共表达：可以进行多个模板的同时表达，表达出的多个蛋白自动组装。

无细胞蛋白表达系统与传统细胞表达系统特点比较

	大肠杆菌表达体系	CFS 无细胞表达体系
表达模板	质粒	PCR 片段或质粒
蛋白大小	大于 100 kda 的蛋白很难表达	可表达高至 360 kda 的蛋白
表达时间	从拿到正确模板开始，约 3-5 天	从拿到正确模板开始，约 4 小时 -1 天
细菌培养	需要	不需要
诱导表达	需要	不需要
表达成功率	一般，需要多次调试	95% 以上蛋白成功表达
表达量	不同蛋白表达量差异大， 约 30% 的蛋白表达量较高	90% 以上蛋白表达量较高
包涵体	有，需要多次调试后避免	几乎没有
蛋白折叠	需特殊处理才能正确折叠， 如翻译后去折叠，然后再折叠	随着翻译过程， 正确折叠成自然状态
内源蛋白降解	有	无
密码子优化	难	容易
膜蛋白表达	无法表达	加入脂质体，正常表达和组装
毒蛋白表达	无法表达	无细胞，毒性无用，正常表达
多蛋白同时表达	无法表达	多个蛋白可以同时在一个体系中表达，并且可以自动组装成与 in vivo 结构相同的复合体
内毒素	有	无

无细胞蛋白表达的流程

CFS 系列用于蛋白表达，需要模板构建、转录和翻译三个步骤。首先构建携带 SP6 启动子、E01 增强子、目的基因的线性模板或质粒，随后在转录反应液中进行体外转录，再以获得的 mRNA 为模板进行翻译反应。翻译一般采用双层液相法（Bilayer Reaction Method），方便快捷。

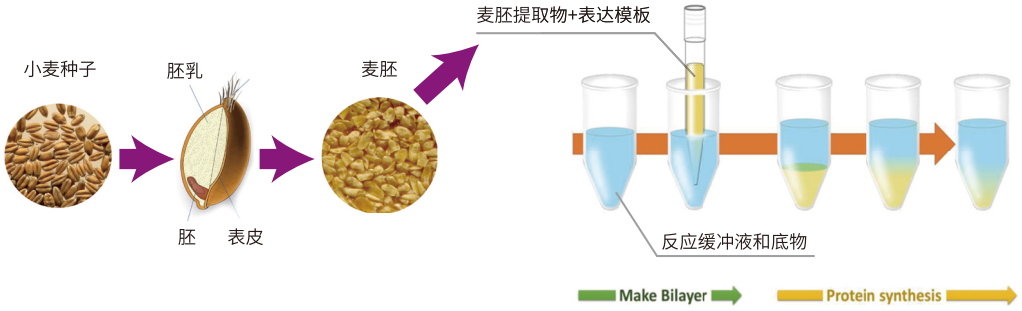


PCR产物或者质粒作为模板；

产物加入模板以及转录混合物之后，进行体外转录。
注：对于Premium One Kit，转录和翻译是偶联的，一管式进行；对于其他Kit，转录和翻译是非偶联的，分别进行；

得到mRNA之后，常用Bilayer的方法进行翻译。

如需使用其他翻译方法，或自动化蛋白表达，请咨询TIANGEN。



双层液相反应法（Bilayer Reaction Method）通过反应液和麦胚提取物造成的密度差，相互渗透，在液面相交处发生反应。随着时间的推进，溶液逐渐由两相变为单一的混合物而终止。

无细胞蛋白表达系列产品选购指南

产品	目录号	产品规格	转录翻译形式	反应时间	蛋白得率*	产品说明
Premium One Expression Kit	CFS-EDX-ONE	55 µl×24 rxn	一管式偶联进行	4-12小时	1-3 µg	可用以检测基因克隆、载体构建和蛋白表达是否成功。
Protein Research Kit	CFS-PRK-S16	226 µl×16 rxn	非偶联	1小时转录，20小时翻译	30 µg	中量表达试剂盒，在Premium One检测正常表达后可直接使用
Protein Research Kit (G)	CFS-PRK-G16	226 µl×16 rxn	非偶联	1小时转录，20小时翻译	30 µg	更适用于GST标签蛋白表达的Protein Research Kit.
Protein Research Kit (H)	CFS-PRK-H16	226 µl×16 rxn	非偶联	1小时转录，20小时翻译	30 µg	更适用于His标签蛋白表达的Protein Research Kit.
WEPRO7240 Core Kit	CFS-C7	226 µl×96 rxn 1.2 ml×20 rxn 6 ml×4 rxn	非偶联	6小时转录，20小时翻译	20 µg-1 mg	大量表达试剂盒，在Premium One检测正常表达后可直接使用
WEPRO7240 Core Kit (G)	CFS-C7G	226 µl×96 rxn 1.2 ml×20 rxn 6 ml×4 rxn	非偶联	6小时转录，20小时翻译	20 µg-1 mg	更适用于GST标签蛋白表达的WEPRO 7240 Core Kit.
WEPRO7240 Core Kit(H)	CFS-C7H	226 µl×96 rxn 1.2 ml×20 rxn 6 ml×4 rxn	非偶联	6小时转录，20小时翻译	20 µg-1 mg	更适用于His标签蛋白表达的WEPRO 7240 Core Kit.
ProteoLiposome PLUS Expression Kit	CFS-EDX-PLUS-PLE	240 µl×8 rxn	非偶联	1小时转录，20小时翻译	10 µg	带有脂质体，可用以检测基因克隆、载体构建和蛋白表达是否成功。
ProteoLiposome BD Expression Kit	CFS-PLE-BD	2.5 ml×6 rxn	非偶联	1小时转录，20小时翻译	500 µg	专门的膜蛋白表达试剂盒，带有脂质体。
New Disulfide Bond PLUS Expression Kit	CFS-EDX-DB	230 µl×8 rxn	非偶联	1小时转录，20小时翻译	30 µg	具有二硫键修饰功能的试剂盒，不含DTT，利于 IgG 抗体-Fab片段和含二硫键蛋白的表达

注：如需订购 pEU 系列质粒，请联系 TIANGEN 客服。

*：为该反应体系总蛋白，以 GFP/DHFR/T1R1 为例进行蛋白表达，使用 BCA 蛋白定量试剂盒定量

注意事项

- 试剂不宜长期存放于干冰中，请尽快移入 -80℃冰箱内。
- 试剂反复冻融不要超过 2 次。第一次使用时请及时分装。
- 推荐使用 RNase-Free ddH_2O 溶解质粒，避免 RNase 污染。

无细胞蛋白表达和检测

无细胞蛋白表达

目录号	产品名称	包装	价格
New CFS-EDX-DB	Disulfide Bond PLUS 无细胞蛋白表达试剂盒	230 µl × 8 rxn	10000 元
CFS-EDX-ONE	Premium One 无细胞蛋白表达试剂盒	55 µl × 24 rxn	5000 元
CFS-PRK-S16	Protein Research 无细胞蛋白表达试剂盒	226 µl × 16 rxn	13000 元
CFS-PRK-H16	Protein Research 无细胞蛋白表达试剂盒 (His)	226 µl × 16 rxn	14000 元
CFS-PRK-G16	Protein Research 无细胞蛋白表达试剂盒 (GST)	226 µl × 16 rxn	14000 元
CFS-C7	WEPRO 7240 无细胞蛋白表达试剂盒	226 µl × 96 rxn 1.2 ml × 20 rxn 6 ml × 4 rxn	26000 元
CFS-C7H	WEPRO 7240H 无细胞蛋白表达试剂盒	226 µl × 96 rxn 1.2 ml × 20 rxn 6 ml × 4 rxn	28000 元
CFS-C7G	WEPRO 7240G 无细胞蛋白表达试剂盒	226 µl × 96 rxn 1.2 ml × 20 rxn 6 ml × 4 rxn	28000 元
CFS-EDX-PLUS-PLE	ProteoLiposome PLUS 无细胞膜蛋白表达试剂盒	240 µl × 8 rxn	9500 元
CFS-PLE-BD	ProteoLiposome BD 无细胞膜蛋白表达试剂盒	2.5 ml × 6 rxn	50000 元

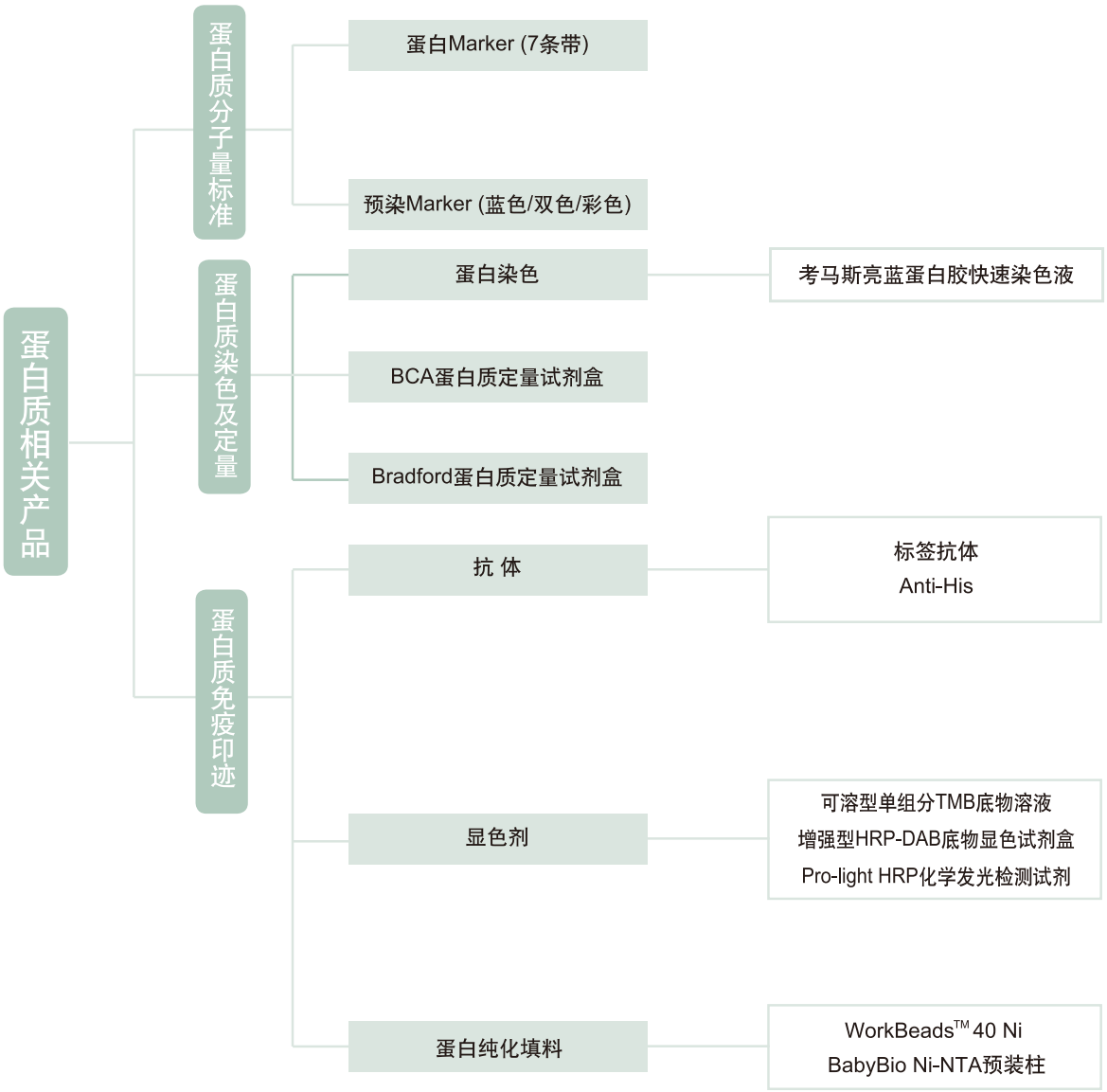
网址 : www.tiangen.com
免费电话 : 800-990-6057　400-810-6057
E-mail: people@tiangen.com

扫一扫 手机查询更方便

产品详情　说明书　参考文献　电子目录

蛋白质相关产品选择指南

在生物体内，蛋白质扮演着构筑生命大厦的“砖块”角色，随着破译生命密码的人类基因组计划进入尾声，一个以蛋白质为研究重点的“后基因组时代”已经拉开序幕，蛋白质将是今后的重点研究方向之一。从 2005 年开始，TIANGEN 公司陆续推出蛋白系列相关产品，包括抗体，蛋白质分子量标准，蛋白质显色试剂，蛋白胶快速染色液、蛋白质定量试剂盒等，力争为蛋白质学研究技术的不断进步和完善发挥力量。



关于 SDS-PAGE 凝胶电泳

SDS-PAGE 凝胶电泳是在 PAGE 凝胶电泳中引入阴离子去污剂 SDS，通过 SDS 打开分子内和分子间氢键，破坏蛋白质的二级和三级结构。蛋白质在一定浓度的含有 SDS 的溶液中，与 SDS 分子按比例混合，形成 SDS- 蛋白质复合物，这种复合物由于结合了大量 SDS，使蛋白质丧失了原有的电荷状态形成仅保持原有分子大小为特征的负离子团块，从而降低或消除了各种蛋白质分子间天然的电荷差异。由于 SDS 与蛋白质的结合是与蛋白质分子量成比例的，因此在进行电泳时，蛋白质分子的迁移速度取决于蛋白质分子量大小。

蛋白质相关产品

蛋白纯化

目录号	产品名称	包装	价格
WM6-45-655-101	BabyBio Ni-NTA 预装柱	1 ml	询价
WM6-45-655-105		5 ml	询价
WM6-40 650 001	WorkBeads 40 Ni Bulk Media	25 ml	询价
WM6-40 650 003		150 ml	询价
WM6-40 650 010		1 L	询价

蛋白染色和免疫印迹

目录号	产品名称	包装	价格
AB102-02	Anti-His Antibody	100 µl (1 mg/ml)	1180 元
PA101	考马斯亮蓝快速染色液	100 ml	50 元
PA107-01	可溶型单组分 TMB 底物溶液	100 ml	180 元
PA107-02		5 × 100 ml	680 元
PA110	增强型 HRP-DAB 底物显色试剂盒	20 × 试剂 A：2 × 1.5 ml 20 × 试剂 B：2 × 1.5 ml 20 × 试剂 C：2 × 1.5 ml	170 元
PA112-01	Pro-light HRP 化学发光检测试剂	试剂 A：25 ml 试剂 B：25 ml	280 元
PA112-02		试剂 A：2 × 25 ml 试剂 B：2 × 25 ml	520 元

蛋白定量

目录号	产品名称	包装	价格
PA115-01	BCA 蛋白质定量试剂盒	50 次 (试管检测) 500 次 (微板检测)	380 元
PA115-02		250 次 (试管检测) 2500 次 (微板检测)	1000 元
PA102	Bradford 蛋白质定量试剂	100 次 (试管检测) 500 次 (微板检测)	200 元

蛋白 Marker

目录号	产品名称	包装	价格
MP102	蛋白质分子量标准 (14.4-94 kDa)	20 次	100 元
MP204	预染蛋白质分子量标准 III (蓝色 , 18-94 kDa)	20 次	200 元
MP206	宽范围彩色预染蛋白质分子量标准 (11-245 kDa)	20 次	350 元
MP211	Proteo 三色预染蛋白质 Marker	250 µl/ 支	300 元
MP211-01	Proteo 三色预染蛋白质 Marker (10 支装)	250 µl/ 支 ×10	2580 元

网址 : www.tiangen.com
免费电话 : 800-990-6057　400-810-6057
E-mail: people@tiangen.com

扫一扫 手机查询更方便

产品详情　说明书　参考文献　电子目录