# 明皓生物蛋白表达

| | |
|---|---|
| 产品名称 | 明皓生物蛋白表达 |
| 公司名称 | 武汉明皓生物科技股份有限公司 |
| 价格 | 500.00/mg |
| 规格参数 | 品牌:明皓 |
| 公司地址 | 武汉市东湖开发区高新大道666号武汉国家生物产业基地项目C区研发楼C6栋203室 |
| 联系电话 | 02787687991 15527027539 |

# 产品详情

蛋白表达是指用模式生物如细菌、酵母、动物细胞或者植物细胞表达外源基因蛋白的一种分子生物学技术，在基因工程技术中占有核心地位。

体外蛋白表达系统包括原核蛋白表达和真核蛋白表达两种。原核蛋白表达系统主要是大肠杆菌，它操作简便、周期短收益大及表达产物稳定，但是表达蛋白的相对分子质量有限，不宜过大，且不能对表达产物进行一些翻译后加工、修饰。真核蛋白表达系统主要包括哺乳动物细胞表达系统、酵母表达系统和昆虫细胞表达系统。

原核蛋白表达系统

原核表达是指将克隆基因插入合适的原核表达载体后导入大肠杆菌表达大量蛋白质。大肠杆菌用于表达重组蛋白有以下特点：

①易于生长和控制；

②能在廉价的培养基中高密度培养；

③有各种各样的大肠杆菌菌株及与之匹配的具各种特性的质粒可供选择。

尽管原核蛋白表达系统中有众多的优点，但并非每一种基因都能在原核蛋白表达系统中有效表达。这归因于每种基因都有其独特的结构、mRNA的稳定性和翻译效率、蛋白质折叠的难易程度、宿主细胞蛋白酶对蛋白质的降解、外源基因和E.coli 在密码子利用上的主要差别以及蛋白质对宿主的潜在毒性等等。　原核蛋白表达可获得占总蛋白50%的蛋白表达水平，但原核蛋白表达的动物蛋白不能进行正确的翻译后加工如糖基化和三维结构的形成，缺乏将蛋白质有效释放到培养基中的分泌机制和充分形成二硫键的能力。不具有与天然抗体相似的功能活性，且在人体内易于清除。

真核蛋白表达系统

真核蛋白表达系统可以进行修饰和糖基化、磷酸化等翻译后加工，保持蛋白的生物学活性及构象。受到日益重视，其优点是：

①根据原核生物蛋白与靶DNA间作用的高度特异性设计，而靶DNA与真核基因调控序列基本无同源性，故不存在基因的非特异性激活或抑制；

②真核蛋白表达能诱导基因高效表达，可达105倍，为其他系统所不及；

③真核蛋白表达能严格调控基因表达，即不仅控制基因表达的“开关”，还可人为地调控基因表达量。

真核蛋白表达系统主要包括哺乳动物细胞表达系统、酵母表达系统和昆虫细胞表达系统。

1、哺乳动物细胞表达系统

哺乳动物细胞表达系统是最常用的真核蛋白表达之一，它的优势在于能够指导蛋白质的正确折叠，提供复杂的N型糖基化和准确的O型糖基化等多种翻译后加工功能，因而表达产物在分子结构、理化特性和生物学功能方面最接近于天然的高等生物蛋白质分子。但构成复杂、操作技术要求高、表达产量不大、产率低，且有时会导致病毒感染等是该表达系统的不足之处。

哺乳动物细胞表达外源重组蛋白可利用质粒转染和病毒载体的感染。利用质粒转染获得稳定的转染细胞需几周甚至几个月时间，而利用病毒表达系统则可快速感染细胞，在几天内使外源基因整合到病毒载体中，尤其适用于从大量表达产物中检测出目的蛋白。

哺乳动物细胞表达载体包含原核序列、启动子、增强子、选择标记基因、终止子和多聚核苷酸信号等。为提高哺乳动物细胞的蛋白表达量，需选择合适的表达载体和有效的启动子和增强子。

哺乳动物细胞表达系统常用的宿主细胞有中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、COS细胞、小仓鼠肾(BHK)细胞、小鼠NSO胸腺瘤细胞和小鼠骨髓瘤SP2/0细胞小鼠胚胎成纤维细胞NIH3T3等，不同宿主细胞表达的重组蛋白其稳定性和蛋白糖基化类型不同，因此在选择宿主细胞时应根据具体情况而定。

CHO细胞利于外源基因稳定整合，易于大规模培养，能在无血清和蛋白的条件下生长，是用于真核生物基因表达较为成功的宿主细胞。已用于多种复杂的重组蛋白的生产，但其产量较低，一般仅占细胞蛋白的2.5%。

COS细胞则是进行外源基因瞬时表达时用途最广的宿主，其重组载件易于组建，便于使用，而且对插入DNA的量或者采用基因组DNA 序列的情况都没有什么限制，便于通过检测表达情况来确证cDNA的阳性克隆，也利于快速分析引入克隆化cDNA序列中的突变。

哺乳动物细胞对培养环境十分敏感，营养和生长因子缺乏、缺氧、病毒感染、毒性代谢物的积累、机械搅动以及培养压力的增加等很多因素都可诱导细胞凋亡。大量细胞的死亡严重影响蛋白的表达产量。

目前的生物工程要求使用无血清无蛋白(或含量极低)的双无培养基，使细胞培养很容易做到恒定，细胞分泌的的蛋白更易分离纯化，真核蛋白表达的成本大为下降。

哺乳动物细胞表达系统中，重组蛋白的表达水平与许多因素相关，如转录和翻译调控元件、RNA剪接过程、mRNA稳定性、基因在染色体上的整合位点、重组蛋白对细胞的毒性作用以及宿主细胞的遗传特性等；而且某些理论上可信的设计在实验中不一定可行，比如外源基因在染色体高活性位点的定点整合不一定能获得高表达。因此如果需获得一个基因的高表达。最好多试用几种不同的真核蛋白表达载体及宿主细胞。

随着基工程技术研究的深人，利用哺乳动物细胞表达蛋白产物的有效方式必将得到进一步发展，其在工业生产中的开发应用必将促进基因工程药物的大量生产。

2、昆虫细胞表达系统

(即杆状病毒

表达系统)

昆虫细胞表达系统（即杆状病毒表达系统)是重组真核蛋白表达技术的一个重要组成部分。它被广泛用来制备蛋白，用于基础生命科学研究，如功能基因组学和信号传导。昆虫细胞能像哺乳动物细胞一样，在翻译蛋白质之后对真核生物的蛋白进行折叠和修饰。它们同样适合表达细胞内的哺乳动物蛋白，如激酶，以及分泌性蛋白，某些可能对哺乳动物宿主细胞产生负作用（抑制或毒性）。

昆虫细胞表达系统(即杆状病毒表达系统)具有独特的生物学特性，具有以下几个方面的特点：

①重组蛋白具有完整的生物学功能：可为高表达的外源蛋白在细胞内进行正确折叠、二硫键的搭配及寡聚物的形成提供良好的环境，可使表达产物在结构及功能上接近天然蛋白。

②能进行翻译后的加工修饰：具有对蛋白质完整的翻译后加工能力，包括糖基化、磷酸化、酰基化、信号肽切除及肽段的切割和分解等。（修饰的位点与天然蛋白在细胞内的情况完全一致：对比实验证明，在昆虫细胞发生的糖基化位点与哺乳动物细胞中完全一致，但修饰的寡糖种类却不完全一样。这种不一致对不同目的蛋白的活性影响不同，所以昆虫表达系统还可作为一个研究糖基化对蛋白质结构与功能影响方面的理想模型。）

③表达水平高：最高可使目的蛋白的量达到细胞总蛋白的50%。

④能容纳大分子的插入片段：杆状病毒

毒粒可以扩大，并能包装大的基因片段，但目前尚不知杆状病毒所能容纳的外源基因长度的上限。

⑤能同时表达多个基因：杆状病毒表达系统具有在同一细胞内同时表达多个基因的能力。既可采用不同的重组病毒同时感染细胞的形式，也可在同一转移载体上同时克隆两个外源基因，表达产物可加工形成具有活性的异源二聚体或多聚体。

⑥昆虫细胞

悬浮生长，容易放大培养，有利于大规模表达重组蛋白。

⑦昆虫杆状病毒表达系统具有剪切的功能，能表达基因组DNA；还有对重组蛋白进行定位的功能。

⑧杆状病毒对脊椎动物无感染性，现有研究也表明其启动子在N-%动物细胞中没有活性，因此在表达癌基因或有潜在毒性的蛋白时可能优于其它系统。

昆虫细胞表达系统(即杆状病毒表达系统)，由于其操作安全，表达量高，目前被广泛应用于蛋白表达

的各个领域中。

3、酵母表达系统

酵母是一种单细胞低等真核生物，培养条件普通，生长繁殖速度迅速，能够耐受较高的流体静压。与昆虫表达系统和哺乳动物表达系统相比，酵母表达系统操作简便，成本低廉，可大规模进行发酵，是最理想的重组真核蛋白质生产制备工具。

酵母表达系统是一种新型的真核蛋白表达系统，它兼具原核以及真核表达系统的优点，拥有转录后加工修饰功能，收获的外源蛋白质具有一定程度上的折叠加工和糖基化修饰，性质较原核表达的蛋白质更加稳定，特别适合于表达真核生物基因和制备有功能的表达蛋白质。一些酵母表达系统具有外分泌信号序列，能够将所表达的外源蛋白质分泌到细胞外，因此很容易纯化。用于重组蛋白表达时，可以大规模生产，有效降低了生产成本。

酵母表达系统生产蛋白质产物也有不足之处，如产物蛋白质的不均一、信号肽加工不完全、内部降解、多聚体形成等，造成表达蛋白质在结构上的不一致。解决内部降解的方法有三：一是在培养基中加入富含氨基酸和多肽的蛋白胨或酪蛋白水解物，通过增加酶作用底物来缓解蛋白水解作用；二是将培养基的pH值调成酸性(酵母可在pH3.0~8.0的范围内生长)，以抑制中性蛋白酶的活性；三是利用蛋白酶缺失酵母突变体进行外源基因的表达。另外，还要选择合适的真核表达系统，以避免表达产物的过度糖基化情况。因此，真核蛋白表达系统应根据具体情况作适当的改进。

总之，各种蛋白表达系统各有其优缺点，哺乳动物细胞产生的蛋白质更接近于天然蛋白质，但其表达量低、操作繁琐；酵母和昆虫细胞表达系统蛋白表达水平高，生产成本低，但它们的加工修饰体系与哺乳动物细胞不完全相同。各种蛋白表达系统由于翻译后的加工不完全相同，因而产生的重

组蛋白的生物学活性和免疫原性有时会有差别。因此，选择蛋白表达系统时，必须充分考虑各种因素，如所需表达的蛋白质性质、实验条件、生产成本、表达水平、安全性等，权衡利弊后再选择相应的蛋白表达系统。