

CheckMate™ 哺乳动物双杂交系统

产品	包装	目录号	价格
CheckMate™ Mammalian Two-Hybrid System	1	E2440	

E2440 的组分

- 1×20ug pBIND Vector
- 1×20ug pACT Vector
- 1×20ug pBIND-Id Control Vector
- 1×20ug pACT-MyoD Control Vector
- 2×20ug pG5luc Vector

描述: 双杂交系统是在体内检测蛋白-蛋白相互作用的极强有力方法。双杂交系统的基础是在一些转录因子上发现的模域(modular domains): 一个 DNA 结合域,它可以结合一段特异的 DNA 序列,和一个转录激活域,这个转录激活域与基础转录机制相作用(1)。一个转录激活域联合一个 DNA 结合域可能在 TATA 盒启动 RNA 聚合酶 II 复合体的装配,同时增强转录。在 CheckMate™ 哺乳动物双杂交系统中, DNA 结合域和转录激活域分别由不同质粒产生,融合于 DNA 结合域的一个蛋白质(“X”)与融合于转录激活域的第二个蛋白质(“Y”)相互作用时, DNA 结合域就与转录激活域紧密关联。在这个系统中,蛋白 X 与 Y 的相互作用导致报告基因的转录。

特点:

- 哺乳动物系统: 可在所选细胞系中研究相互作用,蛋白质更可能处于其本来构型。更好地保持了诸如糖基化、磷酸化和酰基化等翻译后的修饰。
- 易于定量: Dual-Luciferase®双荧光素酶报告基因检测系统被用于检测。
- 内对照: 海肾荧光素酶使转染效率正常化。
- 快速瞬时检测: 转染后两天即可得到结果,而酵母系统则需 3-4 天。
- 稳定转染: pACT 载体含有新霉素磷酸转移酶基因,可用于稳定转染的选择。

应用:

- 确认两个蛋白质有怀疑的相互作用关系,识别涉及蛋白: 蛋白相互作用的域/残基。

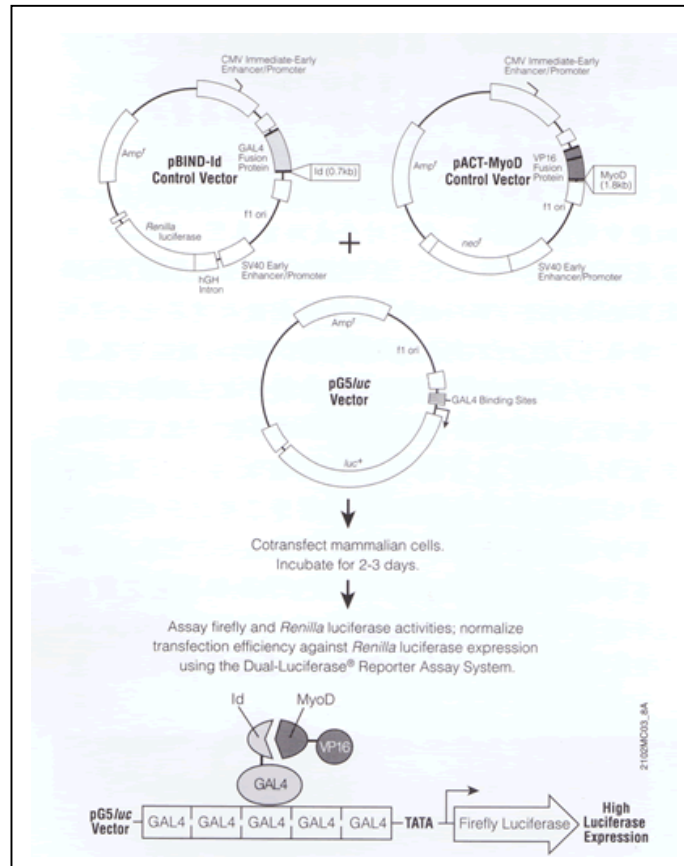
操作指南:

技术手册: TM049

储存: 存于-20℃。

参考文献

1. Sadowski, I. et al.(1998) Nature 335,563



CheckMate™ 哺乳动物双杂交系统中蛋白： 蛋白相互作用正对照反应的概略图示。在正对照反应中，pBIND-Id 和 pACT-MyoD 对照载体与 pG5luc 载体一起共同转染哺乳动物细胞。载体 pG5luc 的萤火虫荧光素酶基因上游含有在基本 TATA 盒上游的 5 个 GAL4 结合位点。细胞温育 2-3 天，裂解，然后用 Dual-Luciferase® 报告基因检测系统检测萤火虫和海肾荧光素酶。在正对照实验中，在 GAL-4Id 和 VP16-MyoD 上融合蛋白 Id 和 MyoD 之间的相互作用导致载体 pG5 luc 上的荧光素酶的高水平表达。