

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200510105294.5

[51] Int. Cl.

G01N 33/566 (2006.01)

G01N 33/547 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 21/76 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 8 月 15 日

[11] 授权公告号 CN 1332202C

[22] 申请日 2005.11.30

[21] 申请号 200510105294.5

[73] 专利权人 首都医科大学

地址 100069 北京市右安门外西头条 10 号

[72] 发明人 贺俊崎 熊英 张红

[56] 参考文献

CN1470875A 2004.1.28

CN1527720A 2004.9.8

WO9901475A 1999.1.14

审查员 王丽华

权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 3 页

[54] 发明名称

一种利用蛋白质芯片研究蛋白质相互作用的方法

[57] 摘要

本发明提供了一种利用蛋白质芯片研究具有 PDZ 结构域与相关蛋白质相互作用的方法。该方法制备具有 PDZ 结构域一类蛋白质的融合蛋白文库，将融合蛋白点印到芯片的基片上，待检测的蛋白质或蛋白质片段制成具有免疫学标签的融合蛋白，将待测蛋白质与芯片进行杂交，检测杂交结果，该方法使用抗免疫学标签的单一抗体，即可对多种能够发生相互作用的蛋白质进行研究，达到高通量、简便快速的要求。

1、一种利用蛋白质芯片研究 PDZ 蛋白结构域与相关蛋白质相互作用的方法，其特征在于：使用抗免疫学标签的单一抗体可同时对多种具有 PDZ 蛋白结构域能够发生相互作用的蛋白质进行研究，其步骤为：

(1) 在大肠杆菌中表达并纯化具有 PDZ 蛋白结构域的蛋白质或蛋白质片段和免疫学标签的融合蛋白；

(2) 将蛋白质芯片放入封闭液中，封闭芯片基片上剩余的活性基团；

(3) 将待测蛋白质或蛋白质片段的融合蛋白加入封闭液中，使其终浓度为 1nM—1uM，在温度为 4-25℃，相对湿度为 70-85%的条件下轻摇孵育至反应平衡；

(4) 洗涤芯片；

(5) 加入作为第一信号物质的可与芯片捕获蛋白的免疫学标签配对的检测抗体，使两个可相互作用的蛋白质与抗体形成复合物；

(6) 洗涤芯片；

(7) 加入与酶连接的第二信号物质，使其与前述复合物实现连接形成复合物；

(8) 洗涤芯片；

(9) 干燥后进行检测。

2、如权利要求 1 所述的检测方法，其特征在于：所述免疫学标签为 GST、His。

3、如权利要求 1 所述的检测方法，其特征在于：所述封闭液配方为：0.2-5%脱脂奶粉，10-1000mM NaCl，1-100mM Tris pH7.4，0.01-1% Tween 20。

4、如权利要求 1 所述的检测方法，其特征在于：所述第二信号物质为抗种属免疫球蛋白 G 抗体。

5、如权利要求 1 所述的检测方法，其特征在于：所述检测的方法为化学发光检测法和荧光发光检测法。

## 一种利用蛋白质芯片研究蛋白质相互作用的方法

### 技术领域

本发明属于生命科学领域，特别涉及一种利用蛋白质芯片研究蛋白质相互作用的方法。

### 背景技术

蛋白质芯片是一种在固态基底上有序排布的蛋白质或多肽阵列，可对蛋白质样品进行检测、识别和鉴定，应用于生物学、医学及其相关领域。

蛋白质与蛋白质的相互作用是生物调控的基本单元，对于理解生物调控机制具有重要意义，是后基因组时代生命科学与其它学科交叉研究的热点。蛋白质-蛋白质相互作用和识别在诸如生物催化、转运、信号传导、免疫、细胞调控等多种生命过程中起着重要的作用。研究蛋白质相互作用的方法很多，目前较普遍的生物化学与分子生物学方法包括：免疫共沉淀 (co-immunoprecipitation, co-IP Moon and Lazarides 1983)、GST-pull down、Far Western 分析、噬菌体展示和酵母双杂交 (Fields and Song 1989) 等。这些技术的发展为蛋白质相互作用的研究提供了非常有效的手段。

但是，免疫共沉淀、GST-pull down 和 Far Western 分析都是针对某一种蛋白质相互作用的分析和鉴定，远远无法满足当今蛋白质组学研究中高通量的要求；同时，免疫共沉淀和 GST-pull down 还需要针对目的蛋白质特异性的抗体，因此在实践上有许多限制；噬菌体展示和酵母双杂交技术虽然可以对蛋白相互作用组进行大规模的筛选，但噬菌体展示技术更适合筛选较短的肽段，而较大蛋白质分子由于很难得到噬菌体展示库，因此对于筛选与其相互作用的蛋白质有很大的局限性；酵母双杂交是检验在细胞内蛋白质与蛋白质的相互作用的一种方法，它的局限性在于所研究的蛋白质必须能够进入细胞核同时该蛋白质不是细胞核转录调控因子。

### 发明内容

本发明的目的是提供一种新的利用蛋白质芯片研究蛋白质相互作用的方法，使待测蛋白质与多种蛋白质的相互作用仅用一张芯片即可筛选鉴定，实现高通量、简便快速的要求。

本发明的技术方案如下：

一种利用蛋白质芯片研究蛋白质相互作用的方法，首先制备具有共同结构特性的一类蛋白质的融合蛋白文库，所述融合蛋白为带有免疫学标签的融合蛋白。按照预先设计的顺序将取自该文库的融合蛋白点印到芯片的基片上，使融合蛋白通过物理吸附作用与基片相连接，从而将融合蛋白固定在芯片基片上。待检测的蛋白质或蛋白质片段也制成具有免疫学标签的融合蛋白，将待测蛋白质与蛋白质芯片进行杂交，检测杂交结果，将显示蛋白质的相互作用情况，即在一张芯片表面即可筛选检测出文库中能与待测蛋白相互作用的蛋白质或蛋白质片段。

一种利用蛋白质芯片研究蛋白质相互作用的方法，其所涉及的蛋白质芯片的制备方法，采取下列步骤：

(1) 将一类具有共同结构特性的蛋白质或蛋白质的片段分别制备成带有免疫学标签的融合蛋白，组成融合蛋白质文库；

(2) 将所制备的各种融合蛋白按照预先设计的顺序点印到芯片的基片上，使融合蛋白与

基片相连接;

(3) 室温放置 24 小时, 待其自然干燥, 密封包装后存放于 4℃ 待用。

一种利用蛋白质芯片研究蛋白质相互作用的方法, 其所涉及的检测方法为使用抗免疫学标签的单一抗体可同时对多种能够发生相互作用的蛋白进行研究, 其步骤为:

(1) 在大肠杆菌中表达并纯化待测蛋白质或蛋白质片段与免疫学标签的融合蛋白;

(2) 将蛋白质芯片放入封闭液中, 封闭芯片基片上剩余的活性基团;

(3) 将待测蛋白质或蛋白质片段的融合蛋白加入封闭液中, 使其终浓度为 1nM-1uM, 在温度为 4-25℃, 相对湿度为 70-85% 的条件下轻摇孵育至反应平衡;

(4) 洗涤芯片;

(5) 加入作为第一信号物质的可与芯片捕获蛋白的免疫学标签配对的检测抗体, 使两个可相互作用的蛋白质与抗体形成复合物;

(6) 洗涤芯片;

(7) 加入与酶连接的第二信号物质, 使其与前述复合物实现连接形成复合物;

(8) 洗涤芯片;

(9) 干燥后进行检测。

本发明是在固态基片上有序排布融合蛋白质或融合蛋白质片段阵列, 可对蛋白质样品间的相互作用进行检测、筛选和鉴定。现有的研究蛋白质相互作用的方法有的只是针对某一种蛋白质相互作用的分析和鉴定; 有的需要针对目的蛋白质特异性的抗体; 有的只适合筛选较短的肽段; 有的对被研究蛋白质的定位及性质有所限定。总之均不能满足蛋白质组学研究中简便、快速、高通量的要求。而采用本发明的研究方法, 则可以把大量的具有共同结构特性的一类蛋白质或蛋白结构域片段同时点阵于一张芯片上, 经过简单的检测操作即可筛选鉴定出有相互作用的一对蛋白质, 大大提高了筛选鉴定的速度和效率, 适用于多种蛋白质相互作用的研究。

本发明的制备工艺简单, 操作安全快捷, 尤其是每次检测过程仅使用针对于免疫学标签的一种抗体即可完成操作, 大大降低了研究成本, 经济实用性强。

#### 附图说明

图 1 是芯片上 PDZ 蛋白结构域的排布情况

图 2 是利用蛋白质芯片研究筛选与 beta1-肾上腺素受体相互作用的 PDZ 蛋白结构域的结果图

图 3 是芯片上 PDZ 蛋白结构域的排布情况

图 4 是利用蛋白质芯片研究筛选与 P2Y1R 相互作用的 PDZ 蛋白结构域的结果图

图 5 是芯片上 WW 蛋白结构域的排布情况

图 6 是利用蛋白质芯片研究筛选与 Sam68 相互作用的 WW 蛋白结构域的结果图

#### 具体实施方式

##### 实施例 1

利用蛋白质芯片研究筛选与 beta1-肾上腺素受体相互作用的 PDZ 蛋白结构域

(1) 制备 PDZ 结构域的融合蛋白质文库。将若干 PDZ 结构域分别构建到 His 融合蛋白表达载体 pET30a 上, 分别表达并纯化 His-PDZ 融合蛋白;

(2) 在作为芯片基片的硝酸纤维素膜上按照 96 孔板的排列方式画上 96 个方格, 将所制备的各种融合蛋白 (0.1M-1mM) 按照预先设计的顺序点印到膜上的各方格内, 使融合蛋白与硝酸纤维素膜相连接;

(3) 室温放置 24 小时, 待其自然干燥, 密封包装后存放于 4℃ 待用。

(4) 将 beta1-肾上腺素受体的羧基末端约 30 个氨基酸所对应的核酸序列片段装入蛋白质表达载体 pGEX-4T-1 内, 在大肠杆菌 BL21 中表达并纯化 GST 融合蛋白 GST-β 1-AR-ct;

(5) 将蛋白质芯片放入封闭液中于室温轻摇 30 分钟, 封闭芯片基片上剩余的活性基团; 封闭液包含: 2% 脱脂奶粉, 100mM NaCl, 10mM Tris pH7.4, 0.1% Tween 20;

(6) 将融合蛋白 GST-β 1-AR-ct 加入封闭液中, 使其终浓度为 100nM, 于 4℃ 轻摇过夜孵育;

(7) 封闭液洗涤芯片 3 次, 每次 5 分钟;

(8) 加入与酶连接的可与芯片捕获蛋白的免疫学标签 GST 配对的检测抗体, 即辣根过氧化物酶标记的抗 GST 抗体, 室温孵育 1h;

(9) 封闭液洗涤芯片 3 次, 每次 5 分钟;

(10) ECL 化学发光试剂盒处理蛋白质芯片 3 分钟;

(11) 干燥后进行 X-光片成像检测。

芯片上各 PDZ 蛋白结构域的排布情况如图 1 所示。

结果如图 2 所示: 格子 A5、A6、A10、B8、B10、C3、E10 和 G2 内的点代表阳性结果, 其所对应的 PDZ 结构域融合蛋白即为与 β 1-AR-ct 有相互作用的 PDZ 蛋白结构域。斑点的大小和深浅可反映相互作用的强弱。

## 实施例 2

利用蛋白质芯片研究筛选与 P2Y1R 相互作用的 PDZ 蛋白结构域

(1) 制备 PDZ 结构域的融合蛋白质文库。将众多 PDZ 结构域分别构建到 His 融合蛋白表达载体 pET30a 上, 分别表达并纯化 His-PDZ 融合蛋白;

(2) 在作为芯片基片的硝酸纤维素膜上按照 96 孔板的排列方式画上 96 个方格, 将所制备的各种融合蛋白 (0.1M-1mM) 按照预先设计的顺序点印到膜上的各方格内, 使融合蛋白与硝酸纤维素膜相连接;

(3) 室温放置 24 小时, 待其自然干燥, 密封包装后存放于 4℃ 待用。

(4) 将 P2Y1R 的羧基末端所对应的核酸序列片段装入蛋白质表达载体 pGEX-4T-1 内, 在大肠杆菌 BL21 中表达并纯化 GST 融合蛋白 GST-P2Y1R-CT;

(5) 将蛋白质芯片放入封闭液中于室温轻摇 30 分钟, 封闭芯片基片上剩余的活性基团; 封闭液包含: 2% 脱脂奶粉, 100mM NaCl, 10mM Tris pH7.4, 0.1% Tween 20;

(6) 将融合蛋白 GST-P2Y1R-CT 加入封闭液中, 使其终浓度为 100nM, 于 4℃ 轻摇过夜孵育;

(7) 封闭液洗涤芯片 3 次, 每次 5 分钟;

(8) 加入与酶连接的可与芯片捕获蛋白的免疫学标签 GST 配对的检测抗体, 即辣根过氧化物酶标记的抗 GST 抗体, 室温孵育 1h;

(9) 封闭液洗涤芯片 3 次, 每次 5 分钟;

(10) ECL 化学发光试剂盒处理蛋白质芯片 3 分钟;

(11) 干燥后进行 X-光片成像检测。

芯片上蛋白的排布情况如图 3 所示。

结果如图 4 所示：格子 B5、B11 内的点代表阳性结果，其所对应的 PDZ 结构域融合蛋白即为与 P2Y1R-CT 有相互作用的 PDZ 蛋白结构域。斑点的大小和深浅可反映相互作用的强弱。

### 实施例 3

利用蛋白质芯片研究筛选与 Sam68 相互作用的 WW 蛋白结构域

(1) 制备 WW 结构域的融合蛋白质文库。将众多 WW 结构域分别构建到 His 融合蛋白表达载体 pET30a 上，分别表达并纯化 His-WW 融合蛋白；

(2) 在作为芯片基片的硝酸纤维素膜上按照 96 孔板的排列方式画上 96 个方格，将所制备的各种融合蛋白 (0.1M-1mM) 按照预先设计的顺序点印到膜上的各方格内，使融合蛋白与硝酸纤维素膜相连接；

(3) 室温放置 24 小时，待其自然干燥，密封包装后存放于 4℃ 待用。

(4) 将编码 Sam68 的核酸序列装入蛋白质表达载体 pGEX-4T-1 内，在大肠杆菌 Top10 中表达并纯化 GST 融合蛋白 GST-Sam68；

(5) 将蛋白质芯片放入封闭液中于室温轻摇 30 分钟，封闭芯片基片上剩余的活性基团；封闭液包含：2% 脱脂奶粉，100mM NaCl，10mM Tris pH7.4，0.1% Tween 20；

(6) 将融合蛋白 GST-Sam68 加入封闭液中，使其终浓度为 100nM，于 4℃ 轻摇过夜孵育；

(7) 封闭液洗涤芯片 3 次，每次 5 分钟；

(8) 加入与酶连接的可与芯片捕获蛋白的免疫学标签 GST 配对的检测抗体，即辣根过氧化物酶标记的抗 GST 抗体，室温孵育 1h；

(9) 封闭液洗涤芯片 3 次，每次 5 分钟；

(10) ECL 化学发光试剂盒处理蛋白质芯片 3 分钟；

(11) 干燥后进行 X-光片成像检测。

芯片上蛋白的排布情况如图 5 所示。

结果如图 6 所示：格子 A12 和 C11 内的点代表阳性结果，其所对应的 WW 结构域融合蛋白即为与 Sam68 有相互作用的 WW 蛋白结构域。斑点的大小和深浅可反映相互作用的强弱。

<u>BIN</u>	<u>PDZ DOMAIN</u>	<u>BIN</u>	<u>PDZ DOMAIN</u>	<u>BIN</u>	<u>PDZ DOMAIN</u>	<u>BIN</u>	<u>PDZ DOMAIN</u>
A1	MAGI-1 PDZ1	B1	MAGI-3 PDZ4	C1	TDI	D1	Zo3 PDZ3
A2	MAGI-1 PDZ2	B2	MAGI-3 PDZ5	C2	TDII	D2	Zo2 PDZ3
A3	MAGI-1 PDZ3	B3	SAP-102 PDZ1+2	C3	X1 PDZ1+2	D3	Zo2 PDZ2
A4	MAGI-1 PDZ4	B4	SAP-102 PDZ3	C4	X1 PDZ3	D4	Zo2 PDZ1
A5	MAGI-2 PDZ1	B5	NHERF I Domain I	C5	CZPA	D5	Zo1 PDZ1
A6	MAGI-2 PDZ2	B6	NHERF I Domain II	C6	GIPC	D6	Zo1 PDZ2
A7	MAGI-2 PDZ3	B7	PSD95 PDZ1+2	C7	INAD6	D7	Zo1 PDZ3
A8	MAGI-2 PDZ4	B8	PSD95 PDZ3	C8	INAD7	D8	$\gamma$ 1 syntrophin
A9	MAGI-2 PDZ5	B9	E6TP1	C9	GEF-1	D9	$\gamma$ 2 syntrophin
A10	MAGI-3 PDZ1	B10	CAL	C10	ERBIN	D10	MALS PDZ1
A11	MAGI-3 PDZ2	B11	nNos	C11	Zo3 PDZ1	D11	MALS PDZ2
A12	MAGI-3 PDZ3	B12	INAD5	C12	Zo3 PDZ2	D12	MALS PDZ3
E1	Chapsyn110 PDZ1+2	F1	PAPIN PDZ1	G1	PTPN13 PDZ4+5	H1	MUPP PDZ7
E2	Chapsyn110 PDZ3	F2	LNK-1 PDZ1	G2	X3 PDZ1	H2	MUPP PDZ8
E3	Densin 130	F3	LNK-1 PDZ2	G3	X3 PDZ2	H3	MUPP PDZ9
E4	RPH PDZ1	F4	LNK-1 PDZ3	G4	PDZK-1 PDZ3	H4	MUPP PDZ10
E5	RPH PDZ2	F5	LNK-1 PDZ4	G5	PDZK-1 PDZ4	H5	MUPP PDZ12
E6	Harmonin PDZ1	F6	LNK-2 PDZ1	G6	PDZK-2 PDZ1	H6	LARG
E7	Harmonin PDZ2	F7	LNK-2 PDZ2	G7	PDZK-2 PDZ2	H7	Shank
E8	$\alpha$ 1 syntrophin	F8	LNK-2 PDZ3	G8	PDZK-2 PDZ3	H8	Ra GEF
E9	$\beta$ 1 syntrophin	F9	LNK-2 PDZ4	G9	PDZK-2 PDZ4	H9	Emgna
E10	X2	F10	PTPN13 PDZ1	G10	MUPP PDZ1	H10	Tamalin
E11	Nb	F11	PTPN13 PDZ2	G11	MUPP PDZ4	H11	Rho GEF
E12	SPX	F12	PTPN13 PDZ3	G12	MUPP PDZ6	H12	MAST 205

图 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		*			*	*				*		
B							+	*		*	*	
C			*									
D												
E										*		
F												
G		*										
H												

图 2

<u>BIN</u>	<u>PDZ DOMAIN</u>	<u>BIN</u>	<u>PDZ DOMAIN</u>	<u>BIN</u>	<u>PDZ DOMAIN</u>
A1	PSD-95 PDZ1+2	C9	ZO-3 PDZ3	F5	PTPN13 PDZ1
A2	PSD-95 PDZ3	C10	$\alpha$ 1-SYNTROPHIN PDZ	F6	PTPN13 PDZ3
A3	CAL PDZ	C11	$\beta$ 1-SYNTROPHIN PDZ	F7	PTPN13 PDZ4+5
A4	MAGI-1 PDZ1	C12	$\beta$ 2-SYNTROPHIN PDZ	F8	E6TP1 PDZ
A5	MAGI-1 PDZ2	D1	$\gamma$ 1-SYNTROPHIN PDZ	F9	C2PA PDZ
A6	MAGI-1 PDZ3	D2	$\gamma$ 2-SYNTROPHIN PDZ	F10	ERBIN PDZ
A7	MAGI-1 PDZ4+5	D3	CHAPSYN110 PDZ1+2	F11	PDZK1 PDZ1
A8	MAGI-2 PDZ1	D4	CHAPSYN110 PDZ3	F12	PDZK1 PDZ2
A9	MAGI-2 PDZ2	D5	MUPP1 PDZ1	G1	PDZK1 PDZ3
A10	MAGI-2 PDZ3	D6	MUPP1 PDZ6	G2	PDZK1 PDZ4
A11	MAGI-2 PDZ4	D7	MUPP1 PDZ7	G3	PDZK2 PDZ1
A12	MAGI-2 PDZ5	D8	MUPP1 PDZ8	G4	PDZK2 PDZ2
B1	MAGI-3 PDZ1	D9	MUPP1 PDZ10	G5	PDZK2 PDZ3
B2	MAGI-3 PDZ2	D10	MUPP1 PDZ12	G6	PDZK2 PDZ4
B3	MAGI-3 PDZ3	D11	MUPP1 PDZ13	G7	LNK1 PDZ1
B4	MAGI-3 PDZ4	D12	MAST205 PDZ	G8	LNK1 PDZ2
B5	MAGI-3 PDZ5	E1	MALS-1 PDZ	G9	LNK1 PDZ3
B6	SAP97 PDZ1+2	E2	MALS-3 PDZ	G10	LNK1 PDZ4
B7	SAP97 PDZ3	E3	DENGIN-100 PDZ	G11	LNK2 PDZ1
B8	NHERF-1 PDZ1	E4	RHOPHILIN-1 PDZ	G12	LNK2 PDZ2
B9	NHERF-1 PDZ2	E5	RHOPHILIN-2 PDZ	H1	LNK2 PDZ4
B10	NHERF-2 PDZ1	E6	HARMONIN PDZ1	H2	PTPN4 PDZ
B11	NHERF-2 PDZ2	E7	HARMONIN PDZ2	H3	RHO-GEF PDZ
B12	GIPC PDZ	E8	NEURABIN PDZ	H4	RA-GEF PDZ
C1	ZO-1 PDZ1	E9	SPINOPHILIN PDZ	H5	ENIGMA PDZ
C2	ZO-1 PDZ2	E10	PAPIN PDZ1	H6	LARG PDZ
C3	ZO-1 PDZ3	E11	PDZ-GEF1 PDZ	H7	PTPN3 PDZ
C4	ZO-2 PDZ1	E12	SAP102 PDZ1+2	H8	SHANK PDZ
C5	ZO-2 PDZ2	F1	SAP102 PDZ3	H9	TAMALIN PDZ
C6	ZO-2 PDZ3	F2	nNOS PDZ	H10	PAR-3 PDZ1
C7	ZO-3 PDZ1	F3	INADL PDZ5	H11	PAR-3 PDZ2
C8	ZO-3 PDZ2	F4	INADL PDZ6	H12	PAR-3 PDZ3

图 3

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B					•						•	
C												
D												
E												
F												
G												
H												

图 4

<b>BIN</b>	<b>PDZ DOMAIN</b>	<b>BIN</b>	<b>PDZ DOMAIN</b>	<b>BIN</b>	<b>PDZ DOMAIN</b>	<b>BIN</b>	<b>PDZ DOMAIN</b>
A1	SMURF1-D1	B1	SMURF1-D2	C1	SMURF2-D1	D1	SMURF2-D2
A2	WWP1-D1	B2	WWP1-D2	C2	WWP1-D3	D2	WWP1-D4
A3	WWP2-D3	B3	WWP2-D4	C3	NEDD4-D1	D3	NEDD4-D2
A4	NEDD4-D3	B4	NEDD4-D4	C4	NEDD4L-D1	D4	NEDD4L-D2
A5	NEDD4L-D3	B5	NEDD4L-D4	C5	NEDL1-D1	D5	NEDL1-D2
A6	caveolin-3	B6	KIAA1301	C6	BAG3	D6	PABPN1
A7	GAS7	B7	YAP1	C7	C20orf67	D7	BAIAP1-D1
A8	BAIAP1-D2	B8	JM26	C8	ARHGAP9	D8	MAGI-3-D1
A9	MAGI-3-D2	B9	LOC201176	C9	AIP1-D2	D9	ITCH-D1
A10	ITCH-D2	B10	ITCH-D3	C10	ITCH-D4	D10	DRP2
A11	DMD	B11	UTRN	C11	KFZp434 M202	D11	KIAA1014
A12	bA48B24	B12	WBP4-D1	C12	WBP4-D2	D12	APBB1
E1	APBB2	F1	APBB3	G1	HYPC-D1	H1	HYPC-D2
E2	HYPB-D1	F2	HYPB-D2	G2	HYPB	H2	PIN1
E3	PIN1L	F3	IQGAP2	G3	TCERG1-D1	H3	TCERG1-D2
E4	WWOX-D1	F4	WWOX-D2	G4	ARHGAP12	H4	PEPP2
E5	SAV1-D1	F5	SAV1-D2	G5	TAZ	H5	

图 5

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												•
B												
C											•	
D												
E												
F												*
G												
H												

图 6

专利名称(译)	一种利用蛋白质芯片研究蛋白质相互作用的方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN1332202C</a>	公开(公告)日	2007-08-15
申请号	CN200510105294.5	申请日	2005-11-30
[标]申请(专利权)人(译)	首都医科大学		
申请(专利权)人(译)	首都医科大学		
当前申请(专利权)人(译)	首都医科大学		
[标]发明人	贺俊崎 熊英 张红		
发明人	贺俊崎 熊英 张红		
IPC分类号	G01N33/566 G01N33/547 G01N33/53 G01N21/76		
审查员(译)	王丽华		
其他公开文献	CN1776425A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种利用蛋白质芯片研究具有PDZ结构域与相关蛋白质相互作用的方法。该方法制备具有PDZ结构域一类蛋白质的融合蛋白文库，将融合蛋白点印到芯片的基片上，待检测的蛋白质或蛋白质片段制成具有免疫学标签的融合蛋白，将待测蛋白质与芯片进行杂交，检测杂交结果，该方法使用抗免疫学标签的单一抗体，即可对多种能够发生相互作用的蛋白质进行研究，达到高通量、简便快速的要求。

BIN	EDZ.DOMAIN	BIN	EDZ.DOMAIN	BIN	EDZ.DOMAIN	BIN	EDZ.DOMAIN
A1	MAGI-1 PDZ1	B1	MAGI-3 PDZ4	C1	TDI	D1	Zo3 PDZ3
A2	MAGI-1 PDZ2	B2	MAGI-3 PDZ5	C2	TDI	D2	Zo3 PDZ3
A3	MAGI-1 PDZ3	B3	SAP-102 PDZ1+2	C3	X1 PDZ1-2	D3	Zo2 PDZ2
A4	MAGI-1 PDZ4	B4	SAP-102 PDZ3	C4	X1 PDZ3	D4	Zo2 PDZ1
A5	MAGI-2 PDZ1	B5	NHERF1 Domain I	C5	CFPA	D5	Zo1 PDZ1
A6	MAGI-2 PDZ2	B6	NHERF1 Domain II	C6	GPC	D6	Zo1 PDZ2
A7	MAGI-2 PDZ3	B7	PSD95 PDZ1+2	C7	INAD6	D7	Zo1 PDZ3
A8	MAGI-2 PDZ4	B8	PSD95 PDZ3	C8	INAD7	D8	Y1 syntrophin
A9	MAGI-2 PDZ5	B9	ECTP1	C9	GEF-1	D9	Y2 syntrophin
A10	MAGI-3 PDZ1	B10	CAL	C10	SRRN	D10	MALE PDZ1
A11	MAGI-3 PDZ2	B11	oNes	C11	Zo3 PDZ1	D11	MALE PDZ2
A12	MAGI-3 PDZ3	B12	INAD5	C12	Zo3 PDZ2	D12	MALE PDZ3
E1	Chagryn110 PDZ1+2 F1	PAPIN PDZ1	G1	PTEN13 PDZ4+5	H1	MUPP PDZ7	
E2	Chagryn110 PDZ3 F2	LNK-1 PDZ1	G2	X3 PDZ1	H2	MUPP PDZ8	
E3	Domain 130 F3	LNK-1 PDZ2	G3	X3 PDZ2	H3	MUPP PDZ9	
E4	RPH PDZ1 F4	LNK-1 PDZ3	G4	PDZK-1 PDZ3	H4	MUPP PDZ10	
E5	RPH PDZ2 F5	LNK-1 PDZ4	G5	PDZK-1 PDZ4	H5	MUPP PDZ12	
E6	Harmonin PDZ1 F6	LNK-2 PDZ1	G6	PDZK-2 PDZ1	H6	LARG	
E7	Harmonin PDZ2 F7	LNK-2 PDZ2	G7	PDZK-2 PDZ2	H7	Slank	
E8	G1 syntrophin F8	LNK-2 PDZ3	G8	PDZK-2 PDZ3	H8	Ra GEF	
E9	G1 syntrophin F9	LNK-2 PDZ4	G9	PDZK-2 PDZ4	H9	Egln3	
E10	X2 F10	PTEN13 PDZ1	G10	MUPP PDZ1	H10	Tamalin	
E11	Nb F11	PTEN13 PDZ2	G11	MUPP PDZ4	H11	Rho GEF	
E12	SPOC F12	PTEN13 PDZ3	G12	MUPP PDZ6	H12	MAST 205	

图 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	*											
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

图 2