

案例六：蛋白表达纯化服务案例

本报告纯化蛋白已经发表在 Wang, X., Li, Z.-T., Yan, Y., Lin, P., Tang, W., Hasler, D., Meduri, R., Li, Y., Hua, M.-M., Qi, H.-T., et al. (2020). LARP7-mediated U6 snRNA modification ensures splicing fidelity and spermatogenesis in mice. Mol. Cell 77. Published online February 3, 2020.

客户姓名：王老师（中国科学院生物化学与细胞生物学研究所-刘老师组）

项目编号：20180801A

报告日期：2018-8-12

一：服务流程：

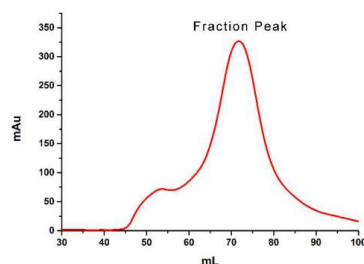
1. 目标基因亚克隆；
2. *E.coli* 表达菌株转化及筛选；
3. 目标蛋白表达及纯化；
4. 目标蛋白质控；
5. 交付成品及报告；

二：客户提供的材料：

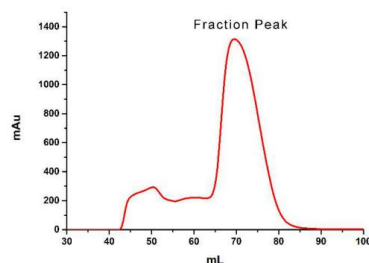
pET28a-Mouse-XXX-wt 质粒；pET28a-Mouse-XXX-mutation 质粒；pET28a-Mouse-yyy 质粒；

三：过程结果：

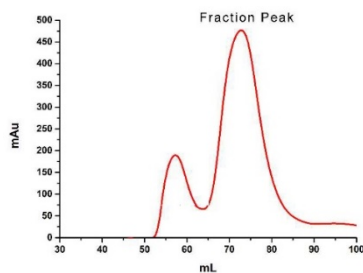
XXX-wt AKTA 仪器纯化过程峰型：



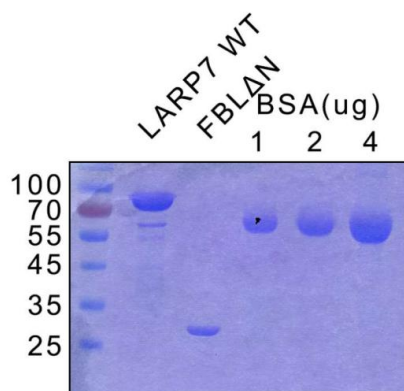
yyy AKTA 仪器纯化过程峰型：



XXX-mutation 仪器纯化过程峰型：

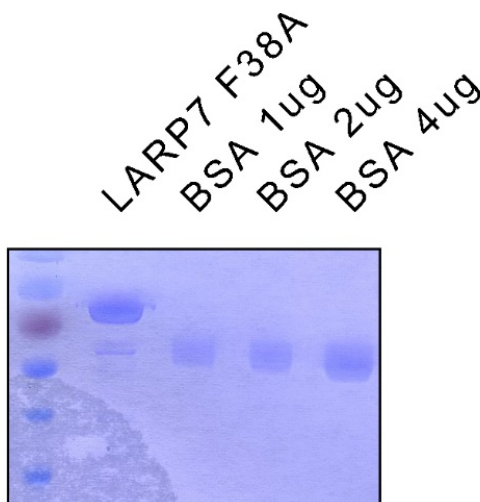


四：目标蛋白定量



XXX-wt 稀释了 5 倍后上样，折算后原液浓度为 8mg/mL。

yyy 稀释了 20 倍后上样，折算后原液浓度为 15mg/mL。



XXX-mutation 折算后原液浓度为 20 mg/mL。

五：目标蛋白质控：

如图，三个蛋白分别与总 RNA 孵育 30 分钟不降解，符合预期要求。



1ug total RNA(from 293T cell) mixed
with indicated recombinant protein
at 37°C, 30min.
Buffer: PBS, pH 7.2



1ug total RNA(from 293T cell) mixed
with indicated recombinant protein
at 37°C, 30min.
Buffer: PBS, pH 7.2

六：成品交付：

每种蛋白交付 1-1.5mg。

七：附件

蛋白存储 buffer 配方：

25 mM Tris-HCl

300 mM NaCl

pH 8.0 @ 25°C