

# 用以表現和/或製備細菌視紫紅質融合膜蛋白的載體、系統與方法

## 本院覽號

11A-1010905

## 公告日期

## 智財權狀態

美國臨時案已申請、美國US 9,067,985放棄維護、台灣(發明)I491731放棄維護

## 摘要

源自於吸收光子嗜鹽菌的bacteriorhodopsin為一被研究已久的穿膜蛋白。在四種已被解出完整基因之嗜鹽菌中，H. salinarum bacteriorhodopsin (HsBR)佔據了75 %的細胞表面。HsBR之結構已被解出，係由七個穿膜接陰落疇H共價鍵與retinal結合。本發明在大腸桿菌中成功表現出六個H. marismortui bacteriorhodopsins，同時發現其中HmBRI/D94N突變株可在大腸桿菌C43(DE3)中大量表現。

## 技術優勢

源自H. marismortui BRI膜蛋白突變株D94N利用最常見的T7表現系統及LB培養基即可在大腸桿菌大量表現，每公升菌液可得到70毫克純化蛋白。利用此大量表現之紫色膜蛋白作為融合蛋白我們設計出新的膜蛋白表現系統包含了利用12個Histidine tag純化並搭配菸草蝕紋病毒 (Tobacco Etch Virus; TEV)蛋白酶分離融合蛋白得到純的標的蛋白。此一紫色膜蛋白在表現及純化過程中不僅可以肉眼觀察同時可直接以波長552 nm吸光值偵測。我們成功利用此表現系統表達兩個穿膜蛋白UppP及CaiT，藉由此融合蛋白系統兩膜蛋白表現量均較單獨表現時高，同時純化後之UppP及CaiT仍具有活性其中CaiT可成功得到蛋白質晶體。

## 應用範圍

HmBRI/D94N可作為新穎膜蛋白表現用融合蛋白用以肉眼觀察，表現並生產高產量高純度膜蛋白。

## 創作人

王惠鈞、許敏峯、楊啟伸、傅煦媛



中央研究院  
ACADEMIA SINICA