

Role of Integrins in Cellular Responses to Mechanical Stress^{*}

ZHANG Hu-Jing^{**}, CAI Shao-Xi, LU Xiao

(Bioengineering Institute of Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract Mechanical stresses play critical roles in normal cellular functions and pathophysiological processes. Integrins, which are transmembrane molecules that interact with both extracellular matrices and intercellular cytoskeleton and kinases in the focal adhesion, are important in mechanotransduction. There is increasing evidence that the dynamic and specific interaction between integrin and extracellular matrices is essential for mechanotransduction.

Key words integrin, mechanical stress, extracellular matrices (ECM), mechanotransduction

^{*} This work was supported by a grant from the National Natural Sciences Foundation of China (19732003).

^{**} Corresponding author. Address: Department of Laboratory Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China.

Tel: 86-23-68752597, E-mail: zhanghj715@sina.com

Received: October 12, 2001 Accepted: December 3, 2001

一种制备 GST 融合蛋白亲和层析胶的方法

彭方杨锐李文鑫

(武汉大学生命科学院生物技术系, 武汉 430072)

谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 融合蛋白表达系统是将外源基因与 GST 基因融合后在细菌内表达的原核表达系统。这个系统使外源基因的转录和翻译效率提高, 同时, 也避免了外源蛋白受细菌本身蛋白酶的降解, 从而实现高效表达。已成为一项常规的实验室操作, 在大规模工业生产中, 也广泛应用。然而, 该系统采用的亲和层析固定相是商品化的谷胱甘肽琼脂糖, 价格昂贵, 限制了这一系统的应用。我们提供了一种制备谷胱甘肽琼脂糖的方法, 以获得 GST 亲和层析胶, 用于纯化谷胱甘肽转移酶和 GST 融合蛋白, 这种方法简单、经济、效果也好, 现介绍如下:

取琼脂糖 Sepharose 4B 5g (5 ml) (发玛西亚公司) 用

100 ml 0.5 mol/L NaCl 淋洗, 再用蒸馏水洗净后, 放入 100 ml 三角瓶中。加入 3.25 ml 2.0 mol/L NaOH, 0.75 ml 环氧氯丙烷和 7.5 ml 56% 1, 4-二氧六环于 45℃ 水浴中振荡 2 h。滤干溶液, 加蒸馏水洗至 pH 8.0 后用 20 ml 0.1 mol/L pH 9.5 碳酸钠缓冲液淋洗。加入 pH 7.0 的磷酸缓冲液 25 ml, 谷胱甘肽溶液 5 ml (500 mg 还原型谷胱甘肽溶于水中, 用 KOH 调 pH 至 7.0, 定容 5 ml), 37℃ 振荡 24 h。用 100 ml 水洗, 加入 1 mol/L 乙醇胺终止反应, 再分别用 200 ml 水、乙酸钠溶液 (pH 4.0)、硼酸钠溶液 (pH 8.0)、水分别淋洗, 加入等体积含 50 mmol/L EDTA 的磷酸缓冲液 4℃ 保存 (所用的化学试剂均为分析纯)。