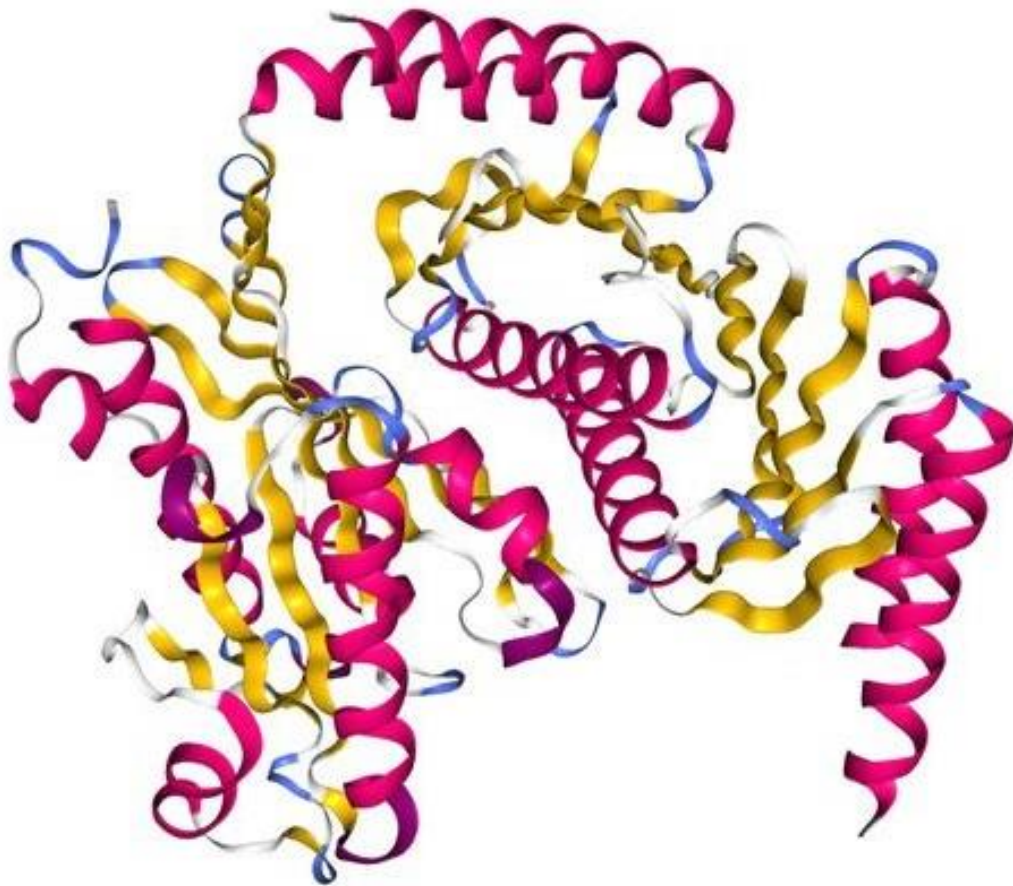


用于检测GT酶活性的多样性单色探针

一系列新基因编码的指标，在细胞中表达以监测GTP酶的活性



请注意，标题图像仅作说明。资料来源：PDB ID 6IZW, doi:10.1093/bioinformatics/bty419, CC0

背景

小GTP酶是细胞用来指定膜功能系统的一部分，因此对许多细胞过程而言十分关键。这包括细胞转移和侵袭力（转移性癌症的两个关键特征）、免疫细胞激活、细胞信号级联（例如：由生长因子受体激活引起）以及细胞膜分选和重塑（在大量先天性和特发性人类疾病中存在缺陷的过程）。

技术概述

来自利物浦大学的一支研究小组开发了一系列全新的基因编码指标，这些指标可在细胞中表达。这些结构通过小GTP酶激活后，诱导荧光信号增加来监测小GTP酶的活性。与其他监测小GTP酶活性系统不同的是，该系统无需使用专门的显微镜（正如目前可用的小GTP酶活性探针所要求，依靠的是测量荧光共振能量转移（FRET））。探针也可与其他荧光标记（GTP酶活性或其他的荧光标记）共同表达。

利物浦的团队还开发了一系列比率测量探针（允许区分膜定位和激活的GTP酶），这些探针对活性和翻译后修饰都有选择性，使自身退激以显示初始激活信号定位的探针及标记到特定细胞器的探针，从而确定细胞器特定活性。

在转染的细胞/细胞系中，对荧光团各表面使用抗体，研究小组可分离重组荧光团的分子（即激活探针的分子），并通过免疫沉淀分离活性与非活性探针的组分，从而检测信号通路的活性。活性敏感的反荧光团抗体也可用于对细胞器/复合物（含活性探针）进行选择性的免疫沉淀，或在电子显微镜下用纳米金颗粒标记这些结构域。

优势

该团队能够表达这些探针的融合蛋白，并将细菌纯化蛋白用作标板试验中GTP/GDP结合的单成分试验。

该系统也可用光激活的形式生成，这也使得GTPase酶活性可通过F-PALM超分辨率显微镜进行监控，从而获得细胞内GTPase酶活性的极高分辨率图像。

应用

这项技术可用于开发多种细胞系，GTPase酶活性可在静止、激活后或对细胞的治疗/调节作出反应的细胞信号传导途径中进行检测。这项技术将有助于基础研究和药物研发。