

Protein-Protein Interactions
Methods and Applications

蛋白质-蛋白质相互作用
方法与应用

原著 Haian Fu
主译 张幼怡
主审 韩启德

北京大学医学出版社

蛋白质-蛋白质相互作用

方法与应用

原 著 Haian Fu

主 译 张幼怡

主 审 韩启德

副主译 徐 进

译 者 (按姓氏笔画排序)

马晓伟 冯飞 刘 飞 刘 宁

宋晓 肖晗 张 惠 何 煜

李子健 杜建海 徐 进 徐 明

秦 雷 冀升政

北京大学医学出版社
Peking University Medical Press

图书在版编目 (CIP) 数据

蛋白质-蛋白质相互作用: 方法与应用/(美)傅(Fu, H.)原著;
张幼怡主译. —北京: 北京大学医学出版社, 2008. 6

书名原文: Protein-Protein Interactions: Methods
and Applications

ISBN 978-7-81116-560-9

I. 蛋… II. ①傅… ②张… III. 蛋白质-相互作用-研
究 IV. Q51

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 048187 号

北京市版权局著作权合同登记号: 图字: 01-2007-1073

Protein-Protein Interactions: Methods and Applications
Haian Fu

The original English language work has been published by HUMANA PRESS
Totowa, New Jersey, U. S. A.

© 2004 by Humana Press.

All rights reserved.

Simplified Chinese translation Copyright © 2008 by Peking University Medical
Press.

All rights reserved.

蛋白质-蛋白质相互作用: 方法与应用

主 译: 张幼怡

出版发行: 北京大学医学出版社 (电话: 010-82802230)

地 址: (100191) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E - mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 莱芜市圣龙印务有限责任公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 张凌凌 责任校对: 杜 悦 责任印制: 郭桂兰

开 本: 880mm×1230mm 1/32 印张: 19.25 插页: 4 字数: 547 千字

版 次: 2008 年 9 月第 1 版 2008 年 9 月第 1 次印刷

书 号: ISBN 978-7-81116-560-9

定 价: 75.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

Protein-Protein Interactions

Methods and Applications

蛋白质-蛋白质相互作用

方法与应用

本书由

北京大学医学部科学出版基金

资助出版

原著者名单

- RUEDI AEBERSOLD • *Institute for Systems Biology, Seattle, WA*
FABRICE AGOU • *Département de Biologie Structurale et Chimie, Institut Pasteur, Paris, France*
KARIN BARNOUIN • *Department of Biochemistry and Molecular Biology, University College London and Ludwig Institute for Cancer Research, London, UK*
MATTHEW A. BENNETT • *Department of Biochemistry, Emory University School of Medicine, Atlanta, GA*
KEITH M. BERLAND • *Physics Department, Emory University, Atlanta, GA*
ROSEMARY BOYLE • *Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle, WA*
SHARON L. CAMPBELL • *Department of Biochemistry and Biophysics, University of North Carolina-Chapel Hill, NC*
VICTORIA E. CENTONZE • *Department of Cellular & Structural Biology, University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX*
FRANCIS KA-MING CHAN • *Department of Pathology, University of Massachusetts Medical School, Worcester, MA*
R. JOHN COLLIER • *Department of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, Boston, MA*
RAINER CRAMER • *Department of Biochemistry and Molecular Biology and Ludwig Institute for Cancer Research, University College London, London, UK*
SIMON L. DOVE • *Division of Infectious Diseases, Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA*
JOHN F. ECCLESTON • *Division of Physical Biochemistry, National Institute for Medical Research, London, UK*
ERNESTO FREIRE • *Department of Biology and Biocalorimetry Center, Johns Hopkins University, Baltimore, MD*
GUANGHUA GAO • *Department of Biochemistry and Biophysics, University of North Carolina-Chapel Hill, NC*
NORMA J. GREENFIELD • *Department of Neuroscience and Cell Biology, UMDNJ-Robert Johnson Medical School, Piscataway, NJ*
KUN-LIANG GUAN • *Department of Biological Chemistry, University of Michigan, Ann Arbor, MI*

- RANDY A. HALL • *Department of Pharmacology, Emory University, Atlanta, GA*
- BRIAN HERMAN • *Department of Cellular & Structural Biology, University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX*
- ANN HOCHSCHILD • *Department of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, Boston, MA*
- DALLAS E. HUGHES • *Cetek Corporation, Marlborough, MA*
- RICHARD A. KAHN • *Department of Biochemistry, Emory University School of Medicine, Atlanta, GA*
- ELENA KOTOVA • *Division of Medical Oncology, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA*
- R. V. KRISHNAN • *Department of Cellular & Structural Biology, University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX*
- STEPHANIE A. LEAVITT • *Department of Biology and Biocalorimetry Center, Johns Hopkins University, Baltimore, MD*
- JAE WOON LEE • *Department of Medicine, Division of Diabetes, Endocrinology, and Metabolism, and Department of Molecular and Cellular Biology, Baylor College of Medicine, Houston, TX*
- SOO-KYUNG LEE • *Gene Expression Laboratory, The Salk Institute, San Diego, CA*
- ROBERT C. LIDDINGTON • *The Burnham Institute, La Jolla, CA*
- NICK LOIZOS • *Department of Protein Chemistry, ImClone Systems Inc., New York, NY*
- CAROL MACKINTOSH • *Medical Research Council Protein Phosphorylation Unit, School of Life Sciences, University of Dundee, Dundee, UK*
- SHANE C. MASTERS • *Medical College of Georgia, Augusta, GA*
- STEPHEN W. MICHNICK • *Département de Biochimie, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada*
- JOHN MILLER • *Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle, WA*
- TOSHIYUKI MIYASHITA • *Department of Genetics, National Research Institute for Child Health and Development, Tokyo, Japan*
- JEREMY MOGRIDGE • *Department of Laboratory Medicine and Pathobiology, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada*
- GREG MOORHEAD • *Department of Biological Sciences, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada*
- MICHAEL MOUREZ • *Department of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, Boston, MA*
- ELIZABETH A. MYATT • *Biosciences Division, Argonne National Laboratory, Argonne, IL*

- JOHN NORTHUP • *Laboratory of Cellular Biology, NIDCD, National Institutes of Health, Rockville, MD*
- JOHN C. OBENAUER • *Center for Cancer Research, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA*
- SANG-HYUN PARK • *Department of Cellular and Molecular Pharmacology, University of California, San Francisco, CA*
- WILLIAM E. PIERCEALL • *Cetek Corporation, Marlborough, MA*
- RONALD T. RAINES • *Departments of Biochemistry and Chemistry, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI*
- INGRID REMY • *Département de Biochimie, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada*
- KATRIN RITTINGER • *Division of Protein Structure, National Institute for Medical Research, London, UK*
- MALCOLM SAXTON • *Ludwig Institute for Cancer Research, Royal Free and University College London, London, UK*
- ILYA G. SEREBRIISKII • *Division of Basic Science, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA*
- JACK F. SHERN • *Department of Biochemistry, Emory University School of Medicine, Atlanta, GA*
- IGOR STAGLJAR • *Institute of Veterinary Biochemistry and Molecular Biology, University of Zurich-Irchel, Zurich, Switzerland*
- FRED J. STEVENS • *Biosciences Division, Argonne National Laboratory, Argonne, IL*
- IAN A. TAYLOR • *Division of Protein Structure, National Institute for Medical Research, London, UK*
- SAFIA THAMINY • *Institut of Veterinary Biochemistry and Molecular Biology, University of Zurich-Irchel, Zurich, Switzerland*
- ADRIAN VELAZQUEZ-CAMPOY • *Department of Biology and Biocalorimetry Center, Johns Hopkins University, Baltimore, MD*
- MICHEL VERON • *Département de Biologie Structurale et Chimie, Institut Pasteur, Paris, France*
- HARIS G. VIKIS • *Department of Biological Chemistry, University of Michigan, Ann Arbor, MI*
- KEITH D. WILKINSON • *Department of Biochemistry, Emory University School of Medicine, Atlanta, GA*
- JASON G. WILLIAMS • *National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC*
- ROSEMARIE WILTON • *Biosciences Division, Argonne National Laboratory, Argonne, IL*

MICHAEL B. YAFFE • *Center for Cancer Research, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA*

FEI YE • *Département de Biologie Structurale et Chimie, Institut Pasteur, Paris, France*

LIXIN ZHANG • *Cetek Corporation, Marlborough, MA*

HUILIN ZHOU • *Department of Chemistry & Biochemistry, University of California-San Diego, San Diego, CA*

译者序

人类基因组测序的完成标志着一个新的生物学研究时代——后基因组时代 (post-genomic era) 的来临。全基因组的序列信息并不足以解释及推测细胞的各种生命现象, 蛋白质才是细胞活性及功能的最终执行者, 蛋白质之间复杂的相互作用决定着生物体的复杂程度, 科学家们的研究热点又回到了蛋白质上。机体细胞内蛋白质之间相互交叉作用可以从分子水平揭示蛋白质的功能, 而且对于提示生长、发育、分化、凋亡以及理解生物调控机制等生命活动规律至关重要, 为探讨重大疾病的机制、疾病治疗、疾病预防和新药开发提供了重要的理论基础。因此, 了解、阐明蛋白质之间相互作用的机制意义重大, 是后基因组时代生命科学与其他学科交叉研究的热点。

本书是由数十位在蛋白质-蛋白质相互作用研究领域中国际著名的科学家共同努力完成的, 全面系统地介绍了蛋白质-蛋白质相互作用的最新理论、技术和各种研究方法, 提供了大量识别和操作蛋白质的技术, 包括详细的相关知识背景和具体操作步骤, 以及标准的实验配方和使用方法, 并附有多种图解和实验结果分析。从理论的阐述到相关方案的列举和比对, 包括经典的分子生物学、生物化学、微生物学、生物物理学方法, 以及计算分析和相互作用模型的构建等, 《蛋白质-蛋白质相互作用: 方法与应用》是生命科学研究者很好的工具书。国内已出版的该类图书尚不多, 特别是缺少这样理论与技术紧密结合的书。因此, 我们希望此书的中文译本能够对我国生命科学的研究的发展有所裨益。

最后, 感谢所有译者, 他们大多是工作在科研第一线的年轻教师和研究生。他们花费了大量业余时间逐字逐句阅读, 反复斟酌译文, 努力做到“信”、“达”、“雅”。感谢北京大学医学出版

社，其出版基金的资助使本书能够顺利出版。读者现在看到的这本书，是大家共同努力的结果，对他们作出的贡献表示最诚挚的感谢。

张幼怡

2008年3月

原著前言

藏在 DNA 里的秘密一步步被揭开，科学家们又面临着新的巨大挑战——解读 DNA 所编码的蛋白质之间相互作用构成的复杂网络。人们越来越清晰地认识到，蛋白质彼此之间高度有序的相互作用，决定了细胞的命运，如增殖、分化或死亡。蛋白质之间的相互作用严格地控制着 DNA 复制、RNA 转录、蛋白质翻译、大分子物质的聚集与降解，以及信号转导过程等。本质上，所有的细胞功能都涉及蛋白质相互作用，可以说蛋白质相互作用是所有生物体保持正常生理功能的基础。许多疾病的发生与蛋白质-蛋白质相互作用的改变密切相关，例如神经退行性疾病、癌症和感染性疾病等。因此，研究蛋白质相互作用的发生条件、发生过程及调控机制，也就是了解各种生物学过程的基础，有助于阐明疾病发生的分子机制并寻找治疗干预的靶点。

近年来，随着生物化学、生物物理、遗传学和计算机分析等领域的发展，涌现出了许多研究蛋白质相互作用的新技术方法。由于蛋白质的物理和化学性质的多样性以及蛋白质相互作用对细胞功能的精确调控，经常需要综合运用上述实验技术对特定的蛋白质相互作用进行具体分析。作为一本介绍蛋白质相互作用研究方法的实用参考书，本书囊括了鉴定参与蛋白质相互作用的分子、在体 (*in vivo*) 或离体 (*in vitro*) 定量和定性测定蛋白质相互作用、监测活细胞内蛋白质相互作用以及测定相互作用界面的常用方法。衷心希望本书对有兴趣研究蛋白质相互作用的广大学者能有所帮助。

本书分为五个部分。第一部分包括两个章节，简单介绍了蛋白质相互作用的基本原理，蛋白质相互作用在结构上的多样性和定量研究蛋白质相互作用的实验设计基本思路。第二部分介绍了体外检测蛋白质相互作用的生物化学和生物物理学的多种技术方法，包括

了常用的光谱学、电泳和以亲和基质为基础的技术，其中许多技术都可以用于蛋白质相互作用的定量分析。在第二部分的结尾，还介绍了分析结构界面的工具和干扰蛋白质相互作用的抑制肽的设计方法。遗传学和分子生物学的发展为蛋白质相互作用的研究带来了革命，第三部分着重介绍了这些革命性的成果，并谈到了在异种细胞体系内研究蛋白质相互作用的常用方法，包括细菌、酵母和哺乳动物细胞的双杂交系统和免疫共沉淀技术。这些都是分析细胞中蛋白质相互作用的方便、实用的手段。第四部分陈述了在活细胞中监测蛋白质相互作用的巧妙方法，包括荧光共振能量转移技术 (fluorescence resonance energy transfer, FRET)。这些方法的共同特点是可以实时捕获蛋白质之间的相互作用并将其可视化。在后基因组时代，尽管研究蛋白质相互作用的传统方法仍然起着十分重要的作用，但是蛋白质组学和生物信息学相关技术的迅速发展将使高通量分析蛋白质相互作用成为可能。第五部分中就讲到了这点，其中着重介绍了高通量技术和计算机分析方法，以及如何利用互联网资源获取研究蛋白质相互作用的信息。

本书的价值在于其十分广泛的涵盖范围，能同时适应基础和临床研究者的需求，内容包含从简单的亲和牵拉分析法 (affinity-based pull-down assay) 到先进的 FRET 和固相同位素标签质谱测定法 (solid-phase isotope tagging-based mass spectrometry)。这些方法应用广泛、代表性强，且均由经验丰富的研究者执笔，详细介绍了其中包含的基本原理和实际应用。每一种实验方法都用一个具体的实例加以说明，并对其中关键的步骤和容易出错的部分附以注释和说明。本书的上述特点以及其广泛的涵盖范围，旨在帮助研究者更好地解读蛋白质的功能和复杂的生物调节系统。

本书题材十分重要、令人兴奋且适逢其时，能就此编辑成书实为快事。另外，能与许多在蛋白质相互作用研究领域中的学术权威交流共事，我深感荣幸。正是他们付出的宝贵时间与精力使这本书的出版成为可能。在此，我衷心感谢每一位为本书付出辛劳的热情的撰稿者，他们是系列主编 John Walker、Craig Adams、James

Geronimo 及所有参与本书的 Humana Press 工作人员。诚挚地感谢为此书提出宝贵建议的 Shane Masters、Keith Wilkinson 和 Jonathan Cooper，以及在书稿准备中提供帮助的 Lisa Cockrell 和 Robert Fu。最后，向始终如一支持和鼓励我的家人 Robert、Emily 和 Guo-hua 致以深深地谢意。

Haian Fu

目 录

第一部分 概 述

- 第 1 章 蛋白质-蛋白质相互作用的结构基础 3
第 2 章 蛋白质-蛋白质相互作用的定量分析 17

第二部分 离体实验方法

- 第 3 章 等温滴定热分析技术检测蛋白质-蛋白质相互作用 39
第 4 章 应用圆二色光谱分析蛋白质-蛋白质相互作用 60
第 5 章 核磁共振谱分析蛋白质-蛋白质相互作用 87
第 6 章 应用表面等离子共振技术研究视紫红质-G 蛋白相互作用
..... 102
第 7 章 使用光散射技术确定蛋白质复合物的化学计量 124
第 8 章 沉降平衡研究 131
第 9 章 模拟小区带凝胶过滤色谱法检测蛋白质-蛋白质相互作用
..... 151
第 10 章 荧光凝胶阻滞实验检测蛋白质-蛋白质相互作用 168
第 11 章 荧光偏振实验技术定量研究蛋白质-蛋白质相互作用
..... 174
第 12 章 通过印迹叠加或 Far Western 印迹研究
蛋白质-蛋白质相互作用 180
第 13 章 GST 融合技术研究蛋白质-蛋白质相互作用 190
第 14 章 亲和毛细管电泳分析蛋白质-蛋白质相互作用在
靶向药物发现中的应用 205

第 15 章	羟基蛋白质足迹法筛选蛋白质-配体相互作用·····	217
第 16 章	利用噬菌体展示和多价大分子技术设计 蛋白质-蛋白质相互作用抑制剂·····	231

第三部分 在异种系统中检测 蛋白质-蛋白质相互作用

第 17 章	基于转录激活的细菌双杂交系统·····	251
第 18 章	应用酵母双杂交系统检测相互作用的蛋白质·····	270
第 19 章	利用双诱饵酵母杂交系统分析蛋白质-蛋白质 相互作用·····	288
第 20 章	用于膜蛋白研究的分裂泛素酵母双杂交系统·····	331
第 21 章	反向酵母双杂交技术·····	349
第 22 章	哺乳动物细胞双杂交分析检测体内蛋白质-蛋白质 相互作用·····	365
第 23 章	对转染细胞进行免疫共沉淀·····	377

第四部分 活细胞中蛋白质-蛋白质相互作用

第 24 章	荧光共振能量转移显微技术·····	393
第 25 章	应用流式细胞分析和荧光共振能量转移检测活体 细胞内分子间相互作用·····	416
第 26 章	荧光相关谱技术——定量检测分子相互作用的新型技术 ·····	429
第 27 章	共聚焦显微镜检测细胞内蛋白质的共定位·····	445
第 28 章	蛋白质片段互补法分析生物化学网络·····	458
第 29 章	细胞内蛋白质交联·····	477

第五部分 基于蛋白质组学的技术

第 30 章	蛋白质-蛋白质相互作用的计算机预测·····	497
第 31 章	用亲和力方法研究磷酸化依赖的相互作用·····	525
第 32 章	蛋白质复合物的双向凝胶电泳分析·····	536
第 33 章	凝胶电泳分离的相互作用蛋白质用于质谱分析前的 样品制备·····	560
第 34 章	应用固相同位素标记和质谱进行蛋白质定量分析···	572
第 35 章	研究蛋白质-蛋白质相互作用的网络资源·····	582
	专业词汇英中对照·····	588