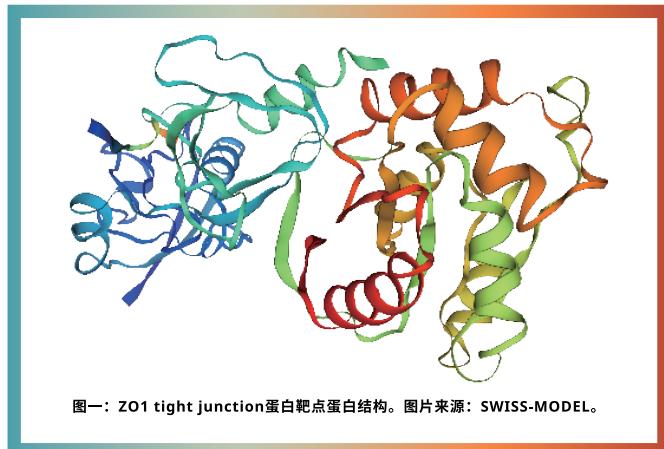


ZO1 tight junction protein (TJP1)



ZO1 tight junction 靶点介绍

蛋白功能

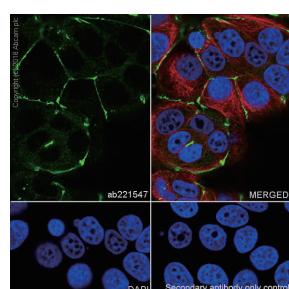
- TJP1 (ZO1 tight junction 蛋白)、TJP2 和 TJP3 是密切相关的支架蛋白，可以将紧密连接 (Tight junction, TJ) 跨膜蛋白连接到肌动蛋白细胞骨架。紧密连接的作用是限制物质通过细胞旁间隙的移动，并作为上皮细胞和内皮细胞组成不同的顶端和基底外侧质膜区域之间的边界。
- 蛋白的 N 端可能参与传递紧密连接组装所需的信号，而 C 端可能具有紧密连接的特定特性，其 α 结构域可能与稳定连接有关。
- 在伪足小体形成及其相关功能中发挥重要作用，从而调节细胞粘附和基质重塑。

蛋白表达

- 在大多数上皮细胞连接中发现含有 α 的长异构体。而较短的异构体常见于内皮细胞、高度特化的肾小球上皮连接处和细精管的支持细胞。

蛋白定位

- ZO1 tight junction 蛋白定位于细胞膜，细胞连接和伪足小体。
- 可以在细胞与细胞接触的同时，从细胞质进入细胞膜。



图二：ZO1 tight junction 蛋白 ICC 实验结果图，Anti-ZO1 紧密连接蛋白抗体 [EPR19945-296] (ab221547)。
绿色：ZO1 紧密连接蛋白，红色：Tubulin，蓝色：DAPI。

ZO1

异构体 & 翻译后修饰

- 人 (Q07157): 长异构体: 195kDa (预测)
短异构体: 187kDa (预测)
- 小鼠 (P39447): 195kDa (预测)
- 大鼠 (AOA0G2K2P5): 197kDa (预测)
- 存在磷酸化修饰, 可被 PTPRJ 去磷酸化。

WB 实验贴士

注意事项

- 由于 ZO1 存在磷酸化翻译后修饰, 可能影响蛋白条带的迁移。导致实际检测到的条带位于 195-245kDa 之间, 与预测值 195 kDa 不符 (如图 3 所示)。请不要裁膜, 并根据大蛋白实验注意事项进行操作。
- ZO1 在不同组织细胞中的表达不同, 有些样本可能会出现弱表达或无表达的情况。推荐使用经过文献验证的实验样本。强烈推荐添加阳性对照 (例如 HeLa 细胞系等), 以确认实验体系没有问题。

阳性对照

- HeLa 细胞系。

阴性对照

- 人 TJP1 敲除的 HeLa 细胞系 / 细胞裂解物 (ab257744)。

结果示例

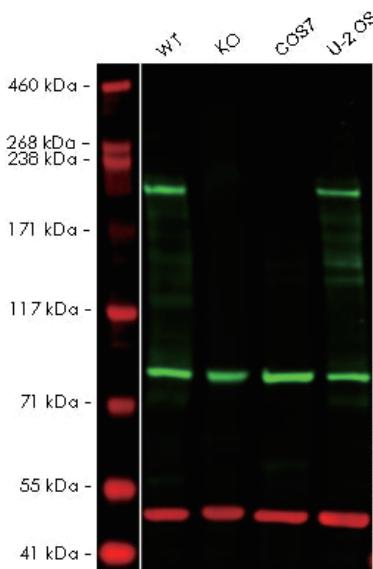


图 3: WB-Anti-ZO1 tight junction 蛋白抗体 (ab216880)。

泳道 1: 20μg HeLa 细胞裂解液。

泳道 2: 20μg TJP1 敲除 HeLa 细胞裂解液。

泳道 3: 10μg COS7 细胞裂解液。

泳道 4: 20μg U-2 OS 细胞裂解液。

一抗: Anti-ZO1 tight junction 蛋白抗体 (ab216880), 浓度 1/1000 稀释。
Anti-alpha Tubulin 抗体 [DM1A](ab7291), 浓度 1/20000 稀释。

二抗: 山羊抗兔 IgG H&L (IRDye® 800CW) 预吸附二抗 (ab216773),
山羊抗鼠 IgG H&L (IRDye® 680RD) 预吸附二抗 (ab216776),
浓度 1/20000 稀释。

结果描述: ZO1 tight junction 蛋白 (绿色), Tubulin (红色)。

预测条带大小: 195kDa

检测条带大小: 200kDa

关键控制点

在实验中除了需要注意常规问题外，还要特别关注以下关键控制点：

- 样本制备：» 添加复合蛋白酶抑制剂以避免靶标蛋白降解。
 - » 整个样本制备过程中，保持样本置于冰上。
 - » 通过 Bradford 分析、Lowry 分析或 BCA 分析测定样本总蛋白浓度。
- 电泳：» 对于分子量较大的靶标蛋白，推荐使用 8% 浓度的分离胶进行电泳。
 - » 建议使用阳性对照。
 - » 至少上样 20 μ g 总蛋白进行电泳。
- 转膜：» 建议在转膜缓冲液中加入 SDS 至终浓度为 0.1%。
 - » 建议使用 0.45 μ m 的 PVDF 膜。
 - » 建议转膜缓冲液中使用 10% 甲醇或更低浓度。
 - » 建议转膜完成后使用丽春红染色，确定转膜是否成功。

参考文献

PMID: 31675499, 27353478, 24309662.