

## [ 発現ベクター-pTD1 の性能 ]

真核生物由来の無細胞タンパク質合成系において、効率的な翻訳反応のためには、mRNAのキャップ構造を必要とします。キャップ構造の付与はキャップアナログを用いて行う方法が知られていますが、非常に高価であるなどの問題点が指摘されていました。

近年、ウイルス由来遺伝子の非翻訳領域(UTR)などから、キャップ構造に依存しない翻訳促進配列が見いだされ、既存の無細胞タンパク質合成系において用いられています。そこでTransdirect insect cell に適した翻訳促進配列のスクリーニングを行い、バキュロウィルスのポリヘドリン遺伝子由来5'UTRを組み込んだ独自開発発現ベクターpTD1を構築しました。今回はこの発現ベクターpTD1の性能について紹介します。

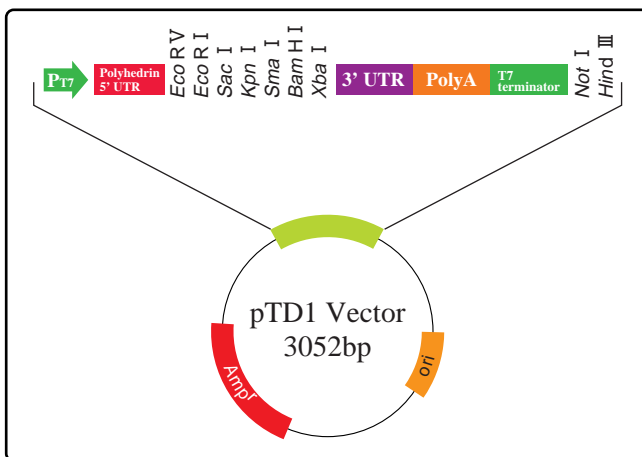
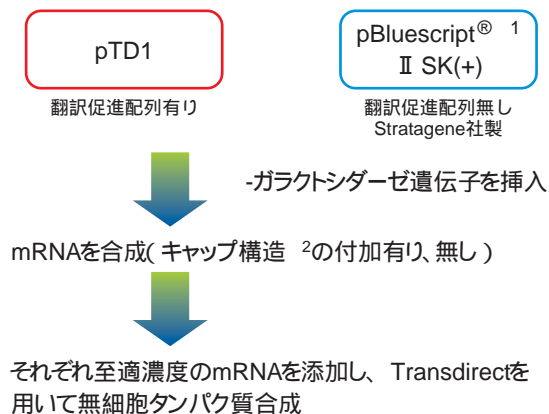


図1 . pTD1 Vectorマップ

- Accession No. AB194742
- タンパク質合成量が約 50 倍 ~ 100 倍向上します (翻訳促進配列が無い場合と比較、図2参照)。
- キャップ構造を付加する必要はありません (図2参照)。
- その他の真核生物由来無細胞タンパク質合成系においても効果的な翻訳促進効果が得られます (図3参照)。

合成タンパク質: -ガラクトシダーゼ(116 kDa)

### 実験フロー



1 pBluescript®はStratagene社の登録商標です。

2 キャップ構造の付加は、Ribo m<sup>7</sup>G cap analog (Promega社製)を用いて行った。

### 結果

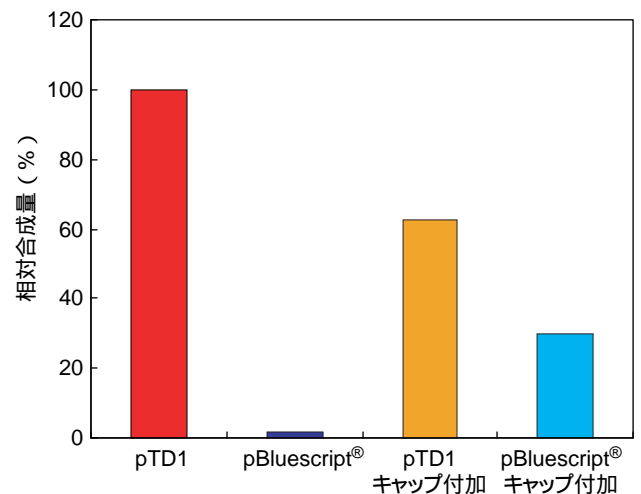


図2 . 翻訳促進配列の効果

-ガラクトシダーゼを指標とした場合、pTD1は翻訳促進配列が無い場合(pBluescript®)と比較して約60倍程度効果的な翻訳促進効率を示しました。さらに、キャップ構造を付加したmRNAよりも1.5倍以上の合成量が得られました。

# 無細胞タンパク質合成試薬キット Transdirect insect cell

無細胞タンパク質合成系において、タバコモザイクウイルス由来の配列やラビット由来  $\beta$ -グロビンリーダー配列が、小麦胚芽抽出液、ウサギ網状赤血球抽出液において効果的な翻訳促進作用を示すことが明らかとなっています。図3には、 $\beta$ -ガラクトシダーゼを指標とした、これら既報の翻訳促進配列とpTD1の翻訳促進効果の比較を示しました。

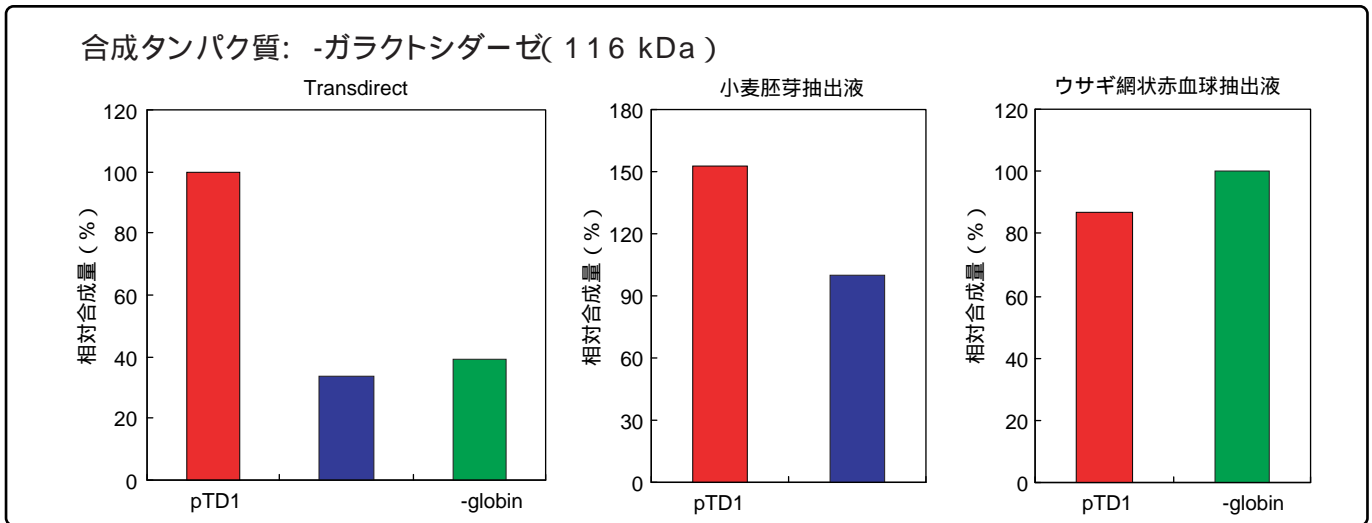


図3. 既報の翻訳促進配列との比較

TransdirectにおいてpTD1は、既報の翻訳促進配列の2倍以上の翻訳促進効果を示しました。さらに、pTD1は小麦胚芽抽出液やウサギ網状赤血球抽出液においても、最適とされる翻訳促進配列と同程度の翻訳促進作用を示しました。

以上の結果より、pTD1はTransdirectのみならず、その他の真核生物由来の無細胞タンパク質合成系においても効果的な発現ベクターとして使用出来ると結論しました。

技術に関するお問合せは・・・

## 分析計測事業部 バイオ・臨床ビジネスユニット

TEL (075)823-1351  
 WEB <https://solutions.shimadzu.co.jp/form/biotech/contact.html>  
 E-Mail [t-direct@shimadzu-biotech.jp](mailto:t-direct@shimadzu-biotech.jp)

### Transdirect insect cell (P/N 292-30000-91)

- キット内容
  - ・ Insect Cell Extract (黄) × 5本
  - ・ Reaction Buffer (青) × 1本
  - ・ 4mM Methionine (赤) × 1本
  - ・ 0.5  $\mu$ g/ $\mu$ L Control DNA (白) × 1本
  - ・ 0.5  $\mu$ g/ $\mu$ L pTD1 Vector (緑) × 1本
  - ・ 取扱説明書

■反応回数: 40回 (50  $\mu$ L合成反応系)

■保存温度: -80

■価格: 31,185円(税込)

- ご注意
- ・ 試薬キットロット間の合成量には、多少の差が見られますがご了承ください。
  - ・ 概観及び仕様は予告なく変更することがありますのでご了承ください。
  - ・ 本製品の使用は試験研究用のみです。臨床、医薬品・食品製造用途には使用できません。

バルクキット(受注生産のため、詳細はお問い合わせください。)

■価格(税込)

20キット相当分	Transdirect insect cell バルクキット20 (P/N 292-30000-92)	404,250円
50キット相当分	Transdirect insect cell バルクキット50 (P/N 292-30000-93)	924,000円
100キット相当分	Transdirect insect cell バルクキット100 (P/N 292-30000-94)	1,617,000円

バルクキットには、pTD1 VectorとControl DNAは含まれません。



価格は2008年10月1日現在のものです。  
 仕様および価格は改良のため、予告なく変更することがありますので、ご了承ください。

島津製作所

分析計測事業部 604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1

バイオ・臨床ビジネスユニット

604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1 (075) 823-1351

<http://www.shimadzu-biotech.jp/>

取次店