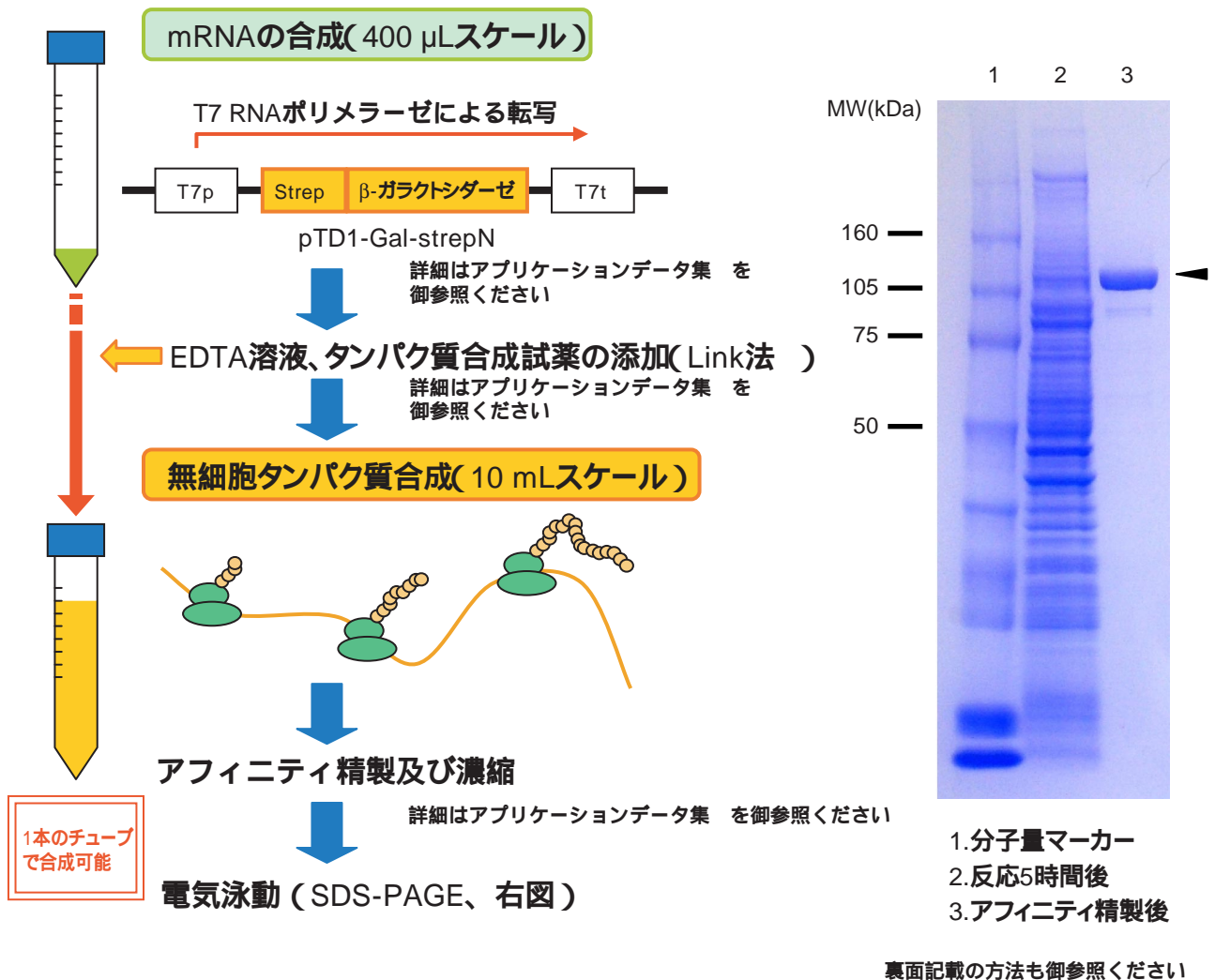


[大容量スケールでのタンパク質合成]

研究において必要とされるタンパク質の量は、機能解析や構造解析など、その用途により様々ですが、一般的には数十 μg ~ 数 mg であるといわれています。

そこで、数百 μg のタンパク質取得を目的として、Transdirect Insect cell による大容量スケール(10 mL)でのタンパク質合成について検討しました。

精製タンパク質： β -ガラクトシダーゼ (116kDa)



10 mL反応スケールで合成した場合、反応液中の酵素活性は26 U/mLであり、50 μL 反応スケールで合成した場合(28 U/mL)とほぼ同等でした。さらに10 mL反応スケールのタンパク質合成により、約320 μg の目的タンパク質を取得することが出来ました。

これにより、10 mL反応スケールのタンパク質合成においても、スモールスケールの場合とほぼ同等の合成効率にてタンパク質合成が可能であることが明らかとなりました。また、スケールアップにより懸念されるmRNA精製の手間も、リンク法を用いることで省略でき、簡単に数百 μg のタンパク質が取得出来ました。

大容量スケールのタンパク質合成用に、キットのバルク販売も可能ですので、お気軽にお問い合わせください。

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

方法

・ mRNA の合成

- ガラクトシダーゼの N 末端に *Strep* タグ配列を導入した後、キットに付属の取扱説明書に従い、pTD1 にクローニングした。これを鋳型とし、T7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production System (Promega, P1320) を用いて、400 μ L スケールにて mRNA を合成した。

・ タンパク質合成 (リンク反応)

mRNA 合成反応液 400 μ L に EDTA 溶液とタンパク質合成試薬を添加し、10mL 反応スケールにてリンク反応を行った (反応容器には 15mL 遠心チューブを使用)。反応液組成を表 1 に示す。EDTA は最終濃度 1.5mM となるように添加した。
EDTA 溶液は蒸留水に溶解後、121 で 20 分オートクレーブ処理して調製

・ タンパク質の精製

TBS で平衡化した *Strep*-Tactin® Superflow (5mL, QIAGEN 社製) に反応液を添加し、同緩衝液でカラムを洗浄後、2mM desthiobiotin にて溶出を行った。
溶出画分を限外ろ過膜 (MWCO=10kDa) で濃縮した。
TBS : 50mM Tris-HCl, 300mM NaCl, pH8.0

表 1. リンク反応における反応液組成

mRNA合成反応液	400 μ L
Reaction Buffer	3 mL
Insect Cell Extract	5 mL
4mM Methionine	200 μ L
100mM EDTA溶液	150 μ L
滅菌蒸留水	1250 μ L

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

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 μ g/ μ L Control DNA (白) × 1 本
 - ・ 0.5 μ g/ μ L pTD1 Vector (緑) × 1 本
 - ・ 取扱説明書

■反応回数: 40 回 (50 μ 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