

Promega Notes 88 アブストラクト

迅速で高感度なATPベースの発光アッセイ法を用いた微生物の定量

BacTiter-Glo™ Microbial Cell Viability Assayは、ATPの定量をベースに生菌数を決定するためのシステムです。このシンプルなアッセイを用いれば約5分という短時間に結果が得られ、その優れた感度により、従来のO.D.測定法に比べ微生物の増殖を直ちに検出することが出来ます。また、本アッセイはシングル-チューブおよびマルチウェルフォーマットに適応し、インジェクターの無いミノメーターやCCDカメラで測光することができます。

[本誌3ページ参照] Full Text → http://www.promega.com/pnotes/88/12162_02/12162_02.pdf

PureYield™ Plasmid Midiprep Systemを用いた迅速で信頼性のある良質なプラスミドのミディスケール精製

本稿では新製品PureYield™ Plasmid Midiprep Systemをご紹介します。本システムは、トランスフェクションをはじめ *in vitro* 発現、自動蛍光DNAシークエンシングやその他のアプリケーションで使用する高純度なプラスミドDNAを迅速に単離するためにデザインされました。新しいPureYield™ columnのユニークなデザインにより、30分以内にプラスミドDNA100~200μgを精製することができます。また、高濃度で溶出されるため、使用前にエタノール沈殿を行う必要がありません。改変されたライセートクリアリングプロトコルを実施すれば、最大400μgのプラスミドDNAを精製することができます。PureYield™ Systemを用いることにより、他のプラスミドミディプレップ法よりも3時間半も操作時間を節約できるため、研究の本質的な仕事に集中することができます。

[本誌15ページ参照] Full Text → http://www.promega.com/pnotes/88/12162_05/12162_05.pdf

MagZ™ system : ヘモグロビン混入のないHisタグ-タンパク質精製

この新規なタンパク質精製システムは、ウサギ網状赤血球をベースにしたタンパク質発現システムで合成したHisタグ-タンパク質の発現、精製、機能解析に関する可能性を広げます。MagZ™ Protein Purification Systemは、ニッケルをベースにしたシステムとは異なり、ヘモグロビンの共精製の無いウサギ網状赤血球ライセートからのポリヒスチンタグ（ヒス-タグ）タンパク質の特異的な精製を可能にするユニークな特性を持っています。そのため、MagZ™ Systemで精製したタンパク質は、他のIMAC法では溶出サンプルに混入するヘモグロビンにより制限される様々なアプリケーションにも使用することができます。

[本誌9ページ参照] Full Text → http://www.promega.com/pnotes/88/12162_09/12162_09.pdf

MagZ™ 粒子を用いた *in vitro* Hisタグ-タンパク質プルダウンアッセイ

我々は、ウサギ網状赤血球ライセートより発現したHisタグ-タンパク質を精製するMagZ™ Protein Purification Systemという新しい製品を開発しました。このタンパク質精製システムは、ニッケルベースのIMAC法では困難なウサギ網状赤血球ライセートからのヘモグロビン共精製の無いHisタグ-タンパク質の特異的な精製を可能にするユニークな利点を備えています。本稿ではMagZ™ Binding Particlesが *in vitro* でのHisタグプルダウンアッセイで使用可能であることを示します。MagZ™ Particlesに結合した既知のHisタグ-タンパク質を用いて、MyoDとの相互作用を検出した実験について報告いたします。

[本誌9ページ参照] Full Text → http://www.promega.com/pnotes/88/12162_13/12162_13.pdf

psiSTRIKE™ hMGFP Vectorを用いたカスパーゼ-3発現の抑制

psiSTRIKE™ U6 Hairpin Cloning System - hMGFPにはsiRNAを生成する短鎖ヘアピンRNA発現ベクターが含まれています。このベクターには内部蛍光マーカーMonster Green™ Fluorescent Protein (hMGFP) が組込まれており、shRNAコンストラクトの細胞内への移動をモニタリングすることができます。このpsiSTRIKE™ hMGFP Vectorでは、ヘアピン標的配列を迅速、確実にクローニングすることができます。hMGFP遺伝子の存在は、FACS®によるランスマフェクション効率の決定やトランスフェクション細胞の選別を容易にします。重要な点として、hMGFPの発現は、同じベクターから発現するshRNA分子による遺伝子サイレンシングに影響を与えないことが挙げられます。本稿では、psiSTRIKE™ hMGFP Vectorを用いたカスパーゼ-3遺伝子発現の効果的な抑制について報告いたします。

Full Text → http://www.promega.com/pnotes/88/12162_16/12162_16.pdf

自然界の終夜灯を利用する — Dr. Keith Woodへのインタビュー

Keith Woodは2001年、Society for Biomolecular Screeningの「Life Sciences Award for Innovation in Automation and High-Throughput Screening」を受賞しました。Perkin Elmer社を共同スポンサーとする同賞は、Dr. Woodの研究および生物発光レポーター遺伝子技術の開発を表彰しました。KeithはPromega社にてこの技術を開発し、1日当たり10万を超える生体サンプルの迅速かつ信頼性の高い定量を実現させました。SBSは、「Dr. Woodの研究は基礎研究分野での重要な新薬開発を導くとともに、新薬開発を新たな最先端領域へと前進させた」としています。Keithは2001年9月13日、メリーランド州ボルティモアで開催されたSBSの2001年度年次総会で同賞を授与されました。Promega社は1997年、Dual-Luciferase® Reporter Assay Systemで「Top 100 Innovative Products」Awardを受賞しました。「Top 100 Innovative Products」Awardは、R&D Magazineが年1回、その年に最も技術的に重要であった100製品と評価された新製品に送るもので、35年以上の歴史があります。過去の「Top 100」受賞製品には、アンチロックプレーキ、液晶ディスプレイ、現金自動預け払い機などがあります。

Full Text → http://www.promega.com/pnotes/88/12162_20/12162_20.pdf

Q&A : TNT® Rabbit Reticulocyte Lysate System

TNT® Coupled Reticulocyte Lysate Systemは、タンパク質発現を行うためのシングル-チューブ、転写および翻訳のカップリング反応によるアプローチを提供します。これらのシステムでは、翻訳反応液の中に直接転写反応を組み込むことにより *in vitro* 翻訳の結果を得るための時間を低減させます。TNT® Systemを選択する場合いくつかの点に考慮すべきです。例えば、使用する鋳型、翻訳するタンパク質のタイプ、望まれる検出方法や反応形式、利用するアプリケーションなどです。本稿では最適なTNT® Systemの選び方について説明します。

Full Text → http://www.promega.com/pnotes/88/12162_24/12162_24.pdf