

Promega Notes 93 アブストラクト

HisLink™ Spin Protein Purification System : 小さなスピнкаラムに秘める 優れた汎用性 - His/HQタグタンパク質精製

HisLink™ Spin Protein Purification SystemはポリヒスチジンタグあるいはHQタグタンパク質 1mgを精製するためのシステムで、添付されるシングルスピンカラムは吸引マニホールドあるいは卓上遠心機で処理することができます。本システムは菌体培養液から直接タンパク質を精製できるため、迅速で簡便な精製ツールとして機能します。

[本誌3ページ参照] Full Text → http://www.promega.com/pnotes/93/14023_02/14023_02.pdf

メンブレンを用いたアプローチによる簡便なDNA結合タンパク質活性の検出

SAM™ Biotin Capture Membraneは、ストレプトアビジンとの親和性を利用してビオチン化分子を用いた実験に使用することができます。SAM™ Membraneは、非特異的な相互作用を抑えながら基質と直線的に結合します。DNA : タンパク質の結合実験では、ビオチン化タンパク質と³²P標識オリゴの組合せ、あるいはビオチン化オリゴと³²S標識タンパク質の組合せで使用することができます。本法は、DNAオリゴヌクレオチドとin vitroで発現させた標的タンパク質との特異的な結合活性を検出するゲルを用いない簡単で便利な方法です。この新しい方法は従来のゲルシフトアッセイ (gel mobility shift, electrophoretic mobility shift [EMSA], gel retardation assay) の代替法として利用できます。

Full Text → http://www.promega.com/pnotes/93/14023_05/14023_05.pdf

Flexi® Vector System : 簡便なクローニング法

Flexi® Vector Systemは、タンパク質コード領域を異なる機能を持つベクターへ移し換える際に生じるクローニングの負担を軽減し、タンパク質機能の多面的な研究をサポートします。1度、目的とするタンパク質コード領域をFlexi® Vectorにクローニングすれば、再度シーケンシングすることなく他の様々なFlexi® Vectorへ簡単に移し換えることができるため、様々な発現システムで比較が行え、最良の収量、結果を得ることができます。

Full Text → http://www.promega.com/pnotes/93/14023_08/14023_08.pdf

MAO-Glo™ Assay : モノアミノオキシダーゼ活性測定のための発光システム

シトクロームP450は薬物代謝反応に関わる主要な酵素ですが、モノアミノオキシダーゼ (MAO) は2番目に重要なフェーズI生体内変換酵素であるとされています。MAOは、数多くの生体アミンおよび生体異物アミンを酸化的脱アミノ化してO₂を消費しH₂O₂を産生しながらアルデヒドに変換する反応を触媒します。これらのフラボ酵素はミトコンドリア外膜に局在し、MAO AおよびMAO Bの2フォームが存在します。ヒトにおいては、これらのアイソフォームは70%の相同性を持ち、異なる組織 (一部で重複) で発現し、異なる基質特異性を有しています。MAOは神経伝達物質を酸化して、毒性を持つH₂O₂を産生するため、喫煙、アルコール依存症、好戦性、ある種の神経変性疾患を含むさまざまな行動条件に関与すると考えられています。

Full Text → http://www.promega.com/pnotes/93/14023_11/14023_11.pdf

TnT® SP6 High-Yield Protein Expression System : 発現レベルが向上した 小麦胚芽 転写/翻訳 システム

TnT® SP6 High-Yield Protein Expression Systemは、シングルチューブで高レベルのタンパク質を合成する無細胞転写/翻訳システムです。本システムには小麦胚芽抽出液をはじめ、SP6 RNAポリメラーゼを介した転写/翻訳反応に必要な全ての成分が含まれています。本稿ではTnT® SP6 High-Yield Systemと従来の小麦胚芽転写/翻訳システムとのタンパク質収量を比較しました。また、小麦胚芽抽出液系のタンパク質発現用にデザインされたFlexi® Vectorとの組合せが良好であることを示しました。

[本誌6ページ参照] Full Text → http://www.promega.com/pnotes/93/14023_15/14023_15.pdf

Kinase-Glo® Plus Assayを用いたウルトラハイスループットプロファイリングのための キナーゼアッセイの最適化

本稿では、4種類のキナーゼおよび10種類のキナーゼ阻害剤から構成されるパネルを用いたキナーゼプロファイリングのコンセプトを示します。我々はKinase-Glo® Plus Luminescent Kinase AssayおよびDeerac Fluidics™ Equator™ HTS 非接触型液体分注システムを用いてウルトラハイスループットプロファイリングスクリーニングをデザイン・実施しました。各テスト化合物で得られたIC₅₀値を示し、このようなプロファイリングがいかに薬剤開発工程を能率化するかを実証しました。

Full Text → http://www.promega.com/pnotes/93/14023_19/14023_19.pdf

生物活性および細胞内活性を測定するための解決策 : GloMax™ ルミノメーターと生物発光試薬

プロメガはホタルルシフェラーゼレポーターアッセイからスタートし、生物発光を出力シグナルとするアッセイを長きに渡って開発してきました。我々は発光技術を用いた化合物や細胞内活性 (アポトーシス、細胞生存性試験、キナーゼ活性、細胞毒性など) を測定する様々なアッセイへと広げました。今回ご紹介するGloMax™ Systemは、試薬、機器、ソフトウェア、プロトコルの全てを統合したサポートシステムです。GloMax™ 96 Luminometerは最先端技術を採用した使いやすい機器で、優れた感度、広いダイナミックレンジを有し、あらゆる発光を測定します。これらはプロメガから利用できる生物発光アッセイの測定に理想的な装置です。本稿では、パフォーマンスの高い機器と試薬の統合に焦点をあてるためにGloMax™ Luminometerを用いた細胞生存性試験とカスパーゼアッセイを行いました。

Full Text → http://www.promega.com/pnotes/93/14023_23/14023_23.pdf