

Promega Notes 94 アブストラクト

Maxwell™ 16 Total RNA Purification Kitを用いたパフォーマンスの高いRNA精製

我々は様々なサンプル（哺乳動物組織、真核生物細胞、白血球、植物葉）からの高純度Total RNAの精製やRNAのクリーンアップなどのアプリケーションにも使用できるMaxwell™ 16 Total RNA Purification Kitを開発しました。Maxwell™ 16 Instrument を用いて前処理したサンプルから手動操作の不要な自動精製により約30分で最大16サンプルの処理を行うことができます。本稿ではTotal RNA精製のための統合されたMaxwell™ 16 Systemの使用例について説明します。

[本誌3ページ参照] Full Text http://www.promega.com/pnotes/94/14410_03/14410_03.pdf

TRIzol® 試薬で精製したTotal RNAのPureYield™ RNA Midiprep Systemによるクリーンアップ

PureYield™ RNA Midiprep Systemは、新規なクリアリング試薬を使用し、実質的にゲノムDNAの混入が無く以降のアプリケーションにそのまま使用できるRNA精製法を採用しています。PureYield™ RNA Midiprep Systemはフェノール：クロロホルム抽出により得られたRNAサンプルのクリーンアップにも使用することができます。PureYield™ RNA Midiprep Systemは、抽出されたRNAに残存するRNaseの除去に加え、サンプルからの混入DNAも除去することができます。混入したDNAの除去は、定量RT-PCRやマイクロアレイ分析など繊細なアプリケーションには重要です。

Full Text http://www.promega.com/pnotes/94/14410_07/14410_07.pdf

次世代の哺乳動物細胞におけるタンパク質間相互作用のアッセイ： CheckMate™ /Flexi® Vector Mammalian Two-Hybrid System

哺乳動物細胞ツーハイブリッドシステムは、哺乳動物細胞環境内でのタンパク質相互作用を検出および確認する上で優れた方法を提供します。次世代のCheckMate™/Flexi® Vector Mammalian Two-Hybrid Systemは、Flexi® Vector Systemに対応していますので、タンパク質コード領域を特定の機能を有する他のFlexi® Vectorに容易に移し換えることができます。レポーターベクターは、反応性が向上した改良型のホタルルシフェラーゼおよび安定した細胞株の樹立に使用できるハイグロマイシン耐性マーカーをコードしています。本稿では、タンパク質コード領域をCheckMate™/Flexi® Vectorに効率的に移し換えること、ならびに相互作用パートナーが容易にスクリーニングできることを示します。

[本誌15ページ参照] Full Text http://www.promega.com/pnotes/94/14410_12/14410_12.pdf

T7 RiboMAX™ Express RNAi Systemを用いた最適な短鎖RNAの合成

T7 RiboMAX™ Express RNAi Systemは、哺乳動物におけるRNAi研究に使用する短鎖干渉RNA (siRNA) やヘアピンsiRNA (shRNA) をミリグラムオーダーで効率的に合成するためにデザインされたin vitro転写システムです。今回、本システムを用いて、短鎖RNAの合成がT7 RNAポリメラーゼによる転写開始に依存し、+1ポジションのヌクレオチドの違いがRNA収量に大きく関与することを示しました。

Full Text http://www.promega.com/pnotes/94/14410_17/14410_17.pdf

発光アッセイ法を用いた3種類のプロテアソームタンパク質分解活性の測定

Proteasome-Glo™ 3-Substrate Systemは、プロテアソームに関連する3種類のタンパク質分解活性を測定する3つのホモジニアス発光アッセイで構成されています。3種類の基質は、プロテアソームに関連するキモトリプシン様、トリプシン様、カスパーゼ様の活性をモニタリングするために合成されています。Proteasome-Glo™ Assayは、プロテアソームの活性化および阻害効果の自動ハイスループットスクリーニングに理想的です。

Full Text http://www.promega.com/pnotes/94/14410_19/14410_19.pdf

細胞集団における生細胞・死細胞比のモニタリング： MultiTox-Fluor Multiplex Cytotoxicity Assay

本稿では1つの培養ウェル内で生細胞および死細胞の相対数を測定するホモジニアス-1液タイプの新しい試薬をご紹介します。この測定技術は逆相関する細胞毒性と細胞生存性から得られるレシオメトリックな値を得ることができ、細胞数に対して補正されたデータとして有用性が発揮されます。また、この試薬は他の蛍光法または発光法に適合性を持つため、マルチプレックスアッセイにも使用することができます。

[本誌20ページ参照] Full Text http://www.promega.com/pnotes/94/14410_22/14410_22.pdf

Single Step (KRX) Competent Cells：効率的なクローニングと高いタンパク質収量

新しいKRX菌株は青/白スクリーニングが行え、高いコンピテンシーを有しています。また、KRXは、T7 RNAポリメラーゼをベースとするタンパク質発現系を有しており、ラムノースプロモーターによりコントロールされ、厳密な発現制御を可能にしました。

[本誌7ページ参照] Full Text http://www.promega.com/pnotes/94/14410_27/14410_27.pdf

TNT® SP6 High-Yield Protein Expression Systemによる機能性タンパク質の合成

小麦胚芽無細胞発現システムTNT® SP6 High-Yield Protein Expression Systemは、高レベルの機能タンパク質を合成します。機能タンパク質の収量は、バッチモードで100µg/ml、透析モードで400~500µg/mlに達します。本稿では、同じベクターから、機能タンパク質であるプロカスパーゼ-3とその成熟タンパク質であるカスパーゼ-3を、タンパク質合成モードの使い分けにより合成する方法を示します。

[本誌10ページ参照] Full Text http://www.promega.com/pnotes/94/14410_31/14410_31.pdf