

Promega Notes 99 アブストラクト

質量分析に適応するProteasMAX™ Surfactantによるタンパク質分析の改良

タンパク質サンプル調製での不完全な溶解や消化および低いペプチド回収率は、質量分析においてしばしば問題になります。SDSや尿素などの添加剤はタンパク質の溶解性、変性の程度を改善しますが、タンパク質消化や質量分析では負の影響を及ぼす傾向があります。本稿では、汎用される溶解補助剤で認められる負の影響を及ぼさずに可溶性、消化効率、ペプチド回収率を改善する酸および温度に易変性を有するサーファクタントProteasMAX™ Surfactantをご紹介します。このサーファクタントは、典型的なサンプル調製プロトコルの中で、質量分析を妨げない両イオン性/中性の分子に分解されます。

Full Text → http://www.promega.com/pnotes/99/15674_03/15674_03.pdf

新しいGoTaq® Hot Start Polymeraseによる簡便なホットスタートPCR

GoTaq® Hot Start Polymeraseは、GoTaq® 製品群に新たに加わったメンバーで、ホットスタートPCRが行え、特異性、収量、感度に優れた酵素です。増幅反応は室温でセットアップでき、そのままサーマルサイクラーにセットすることができます。実際にサーマルサイクリングを行う前に室温で反応液を調製し、最大24時間放置する実験も行いました。本稿では、GoTaq® Hot Start Polymeraseの特性について説明し、標準的なTaq DNAポリメラーゼとの比較を行いました。GoTaq® Hot Start Polymeraseの感度をGreenまたはColorless GoTaq® Flexi Bufferの両方を用いて試験し、RT-PCRでの適応性や市販の2つのホットスタートTaq DNAポリメラーゼと比較しました。

Full Text → http://www.promega.com/pnotes/99/15674_08/15674_08.pdf

RNA精製キットの比較：収量、質、リアルタイムRT-PCRのパフォーマンスについて

プロメガでは、研究ごとに異なるサンプルサイズや処理量に適応するためにデザインされた様々なTotal RNA精製キットを提供しています。我々は、これらのキットで得られるRNAの収量と質について、Qiagen社やInvitrogen社のキットで精製したRNAと比較しました。また、リアルタイムRT-PCRでRNAのパフォーマンスについても比較しました。これらのデータは、プロメガのキットの品質の高さ、遺伝子発現プロファイリングでの有用性を明示しました。一連のキットを比較することにより、リアルタイムRT-PCRで検出された遺伝子発現レベルがキットにより異なることが明らかとなり、定量的RT-PCRを比較する際はこの点について考慮すべきであることが推察されました。

Full Text → http://www.promega.com/pnotes/99/15674_12/15674_12.pdf

microRNAのバイオセンサー：psiCHECK™-2 Vectorのアプリケーション

microRNAによる遺伝子発現の調節について、精力的な研究が行われています。この分野の進歩には、miRNA活性を簡単、迅速にスクリーニングできるツールがきわめて重要になると予想されます。本研究では、本来はsiRNAによるサイレンシング効率のスクリーニングを目的として設計されたpsiCHECK™-2 Vectorが、細胞内microRNA活性のバイオセンサーとして有用であることを明らかにします。

[本誌15ページ参照] Full Text → http://www.promega.com/pnotes/99/15674_16/15674_16.pdf

バイオフィーム形成過程のバクテリア付着に関する研究におけるBacTiter-Glo™ Microbial Cell Viability Assayの使用

バイオフィームは、固相表面あるいは気体と液体の接合表面に形成される複合的なバクテリアによる付着性コミュニティです。このようなバイオフィームは、表面への付着を第一のステップとする制御された段階を経て形成されます。バクテリアが第一のステップを実行するための生理的変化を厳密に研究するためには、表面に付着したバクテリアのバイオマスを正確に測定できる定量的アッセイ法が要求されます。本稿では、バイオフィーム付着物の測定におけるBacTiter-Glo™ Microbial Cell Viability Assayの有用性について記述します。この96ウェルフォーマットのアッセイは細胞内のATP濃度をモニタリングします。菌体内のATP濃度は比較的一定であるため、再現性良く付着菌の相対数を測定することができます。

Full Text → http://www.promega.com/pnotes/99/15674_19/15674_19.pdf

NIH ケミカルゲノミクスセンター (NCGC): 基礎生物学的な研究のための低分子スクリーニング

Molecular Libraries Screening Center Network (MLSCN) に属するNIH Chemical Genomics Center (NCGC) は、ヒトゲノムプロジェクトにより得られた情報資源をフル活用して研究共同体を支援しています。このセンターは、化学と生物学が交差する領域に位置し、生物システムにおける低分子化学プローブの活性を調べる上で有用な情報を収集するために最新の産業スケール技術とウルトラハイスループット生物学アッセイを駆使しています。プロメガは、NCGCおよびMLSCNにおけるゴール達成を支援するアッセイツールを提供しています。

Full Text → http://www.promega.com/pnotes/99/15674_22/15674_22.pdf

GloMax® -Multi Detection Systemを用いた同一ウェル内における細胞の健全性および生存性の連続測定

1つのマルチウェルプレートウェル内で複数のアッセイを同時に実施するマルチアッセイは、時間や費用を節約すると同時に実験的な理解をより深め、データの精度を向上させることができます。本稿では、プロメガのマルチアッセイが行える細胞ベースのアッセイシステムおよびGloMax® Multi Detection instrumentのアプリケーションについて説明します。

[本誌3ページ参照] Full Text → http://www.promega.com/pnotes/99/15674_25/15674_25.pdf

合成細胞外マトリクスによるラット肝細胞P450活性の増加

本研究では、新しい三次元合成マトリクスが肝細胞の生理機能に与える影響について検討しました。Corning社のUltra-Web™ 表面ラボウェア、Ultra-Web™ ポリアミン表面ラボウェア、ならびにBecton Dickinson (BD) 社のBioCoat™ 1型コラーゲンマイクロプレートで肝細胞を培養しました。その後、既知のシトクロムP450誘導剤2種類で48時間処理し、P450活性をP450-Glo™ Assayにより測定しました。その結果、合成マトリクスUltra-Web™ コートマイクロプレートで培養したラット初代培養肝細胞は、生理機能の亢進を示しました。

[本誌10ページ参照] Full Text → http://www.promega.com/pnotes/99/15674_29/15674_29.pdf