

Promega Notes 100 アブストラクト

トランスフェクション実験で最大限の効果を得るには：処理量と感度の向上

レポーター遺伝子のトランスフェクションは、細胞を用いる遺伝子研究や制御配列の機能研究にとって強力なツールとなっています。さまざまな発光テクノロジーによりトランスフェクション量のスケールダウンが可能となり、より少ない材料で、より多くの変量を、より短時間で試験して、より多くのデータを取得できるようになりました。

[本誌10ページ参照] Full Text → www.promega.com/pnotes/100/16620_03/16620_03.pdf

PureYield™ Plasmid Miniprep System：10分間で調製できるトランスフェクショングレードのプラスミドDNA

科学者は、数多くの研究プロトコルの中で第一ステップとなるプラスミドの精製をより簡便に行う方法を常に模索しています。今回我々がご紹介する新しいPureYield™ Plasmid Miniprep Systemは、トランスフェクション、in vitro発現、シークエンシングやクローニングなど広範な下流のアプリケーションに適した高純度のプラスミドDNAを迅速に精製することができます。このシステムでは、0.6mlの菌体培養液ならば菌を遠心で回収することなく直接プラスミドを精製でき、菌体ペレットを回収する場合は最大3mlの菌体培養液を処理することができます。すべての操作は10分以内に完了することができます。

[本誌3ページ参照] Full Text → www.promega.com/pnotes/100/16620_06/16620_06.pdf

S30 T7 High-Yield Protein Expression System

S30 T7 High-Yield Protein Expression Systemは、大腸菌抽出液ベースの無細胞タンパク質合成システムで、T7プロモーターを含むベクターにクローニングされたDNA配列から転写/翻訳を行います。タンパク質収量は、37°C、1時間以内に1ml反応液あたり数百マイクログラム（最大500µg/ml）に達します。反応容量は5µl程度までスケールダウンできるため、ハイスループット解析にも適応します。

[本誌6ページ参照] Full Text → www.promega.com/pnotes/100/16620_09/16620_09.pdf

TNT® T7 Insect Cell Extract Protein Expression Systemによる無細胞系タンパク質発現

TNT® T7 Insect Cell Extract Protein Expression Systemは、プロメガの機能性タンパク質の無細胞系発現製品ラインナップに新たに加わった新製品です。本製品は培養昆虫細胞からの抽出液を基に作成されています。専用のFlexi® Vectorは本システムと併用することで最適なタンパク質発現が得られるように設計されています。

[本誌8ページ参照] Full Text → www.promega.com/pnotes/100/16620_11/16620_11.pdf

融合タンパク質の発現：HaloTag® テクノロジーを用いた実験の始め方

親和性タグや蛍光タンパク質などを付加して融合タンパク質を作成する方法は、タンパク質の構造解析や機能解析において重要です。HaloTag® テクノロジーは、たった1つの融合コンストラクトから異なる機能を付帯させた融合タンパク質を利用することができます。本稿では、HaloTag® 融合コンストラクトを作成する上で、基本となる検討項目や構築ステップについて言及します。

Full Text → www.promega.com/pnotes/100/16620_13/16620_13.pdf

哺乳動物細胞用 HaloTag® 7 Flexi® Vectorによる実験に合ったタンパク質発現レベルの調整

段階的に欠失させたヒトCMV immediate-early enhancer/promoterを含むベクターシリーズの作成により、異なる強度でHaloTag® 7融合タンパク質を安定発現させることができるため、研究者は実験に合わせて発現レベルをコントロールすることができます。これにより、HaloTag® 7タンパク質と融合させる目的タンパク質が有する本来の機能を損なわず、しかも融合タンパク質のイメージングや捕捉が充分に行える発現レベルを実現できます。

Full Text → www.promega.com/pnotes/100/16620_16/16620_16.pdf

生物発光テクノロジーの多様なアプリケーション: TNFα 生物製剤の力価・用量標準化試験のための予測的なバイオアッセイ

腫瘍壊死因子α (TNFα) レベルの調節異常は、関節リウマチ、クローン病、数種の神経疾患など、さまざまな慢性疾患状態との関連性が指摘されているため、TNFαは魅力的な創薬ターゲットとなっています。ヒトの疾患治療薬として既に数々の組換え抗TNFα抗体製剤が開発・ライセンス化されていますが、バイオ医薬品業界では力価や用量の標準化に用いることができる簡単で予測的なバイオアッセイが依然として求められています。本稿でご紹介するシンプルで自動化しやすい予測的なバイオアッセイを使用すれば、抗TNFα製剤を効果的に評価することができ、他の生物製剤でも同様に効果的な品質管理を行うことができます。

[本誌15ページ参照] Full Text → http://www.promega.com/pnotes/100/16620_19/16620_19.pdf

酵素活性測定のための発光性基質：アッセイをデザインする上で新しいパラダイムとなる素材

発光性基質としてのルシフェリン前駆体は、酵素アッセイをデザインする上で新しいパラダイムとなる素材を提供し、酵素学研究者に優れた感度、アッセイ系への影響に対する耐性、使い易さなど生物発光の利点を提供します。本稿では、プロテアーゼ、代謝酵素あるいはβ-ガラクトシダーゼのための幅広い発光酵素基質に焦点を当てています。

Full Text → www.promega.com/pnotes/100/16620_22/16620_22.pdf

生細胞の細胞内イベントをモニタリングするための新規なバイオセンサー

近年、プロメガの研究者は生細胞内の分子イベント検出に遺伝子操作を行ったホタルルシフェラーゼ改変型を導入した新しいテクノロジーに関する記事を始めて掲載しました。その記事では、置換型と非置換型のルシフェラーゼを循環的に使用してバイオセンサーの構築を行う複数のアプローチを示しています。科学者は、3つの設計戦略（共有結合型、非共有結合型、アロステリック型）を用いて酵素活性を変調させるルシフェラーゼ分子中のヒンジ領域を標的としています。

Full Text → www.promega.com/pnotes/100/16620_27/16620_27.pdf