

Promega Notes 101 アブストラクト

Maxwell® 16 Instrumentを用いたマウス尻尾断片からのDNA自動精製

Maxwell® 16 Mouse Tail DNA Purification Kitは、Maxwell® 16 Instrumentとともに使用することにより、マウス尻尾や耳パンチおよびその他の動物組織から良質なDNAを安定に精製します。このシステムは1.2cmのマウス尻尾から最大20µgのDNAを45分以内に精製することができます。酵素消化も不要です。Maxwell® 16 Systemのデザインにより、最適化の不完全さや個人差および不純物の混入などに起因するバラツキが低減されます。この自動化システムは、遺伝子型解析サービスを行う施設や近交系マウス、トランスジェニックマウスや、ノックアウトマウスを使用した研究分野において理想的です。

Full text → http://www.promega.com/pnotes/101/17252_03/17252_03.pdf

HaloTag® テクノロジー：1ウェル観察からハイコンテンツスクリーニングまで応用できる便利、シンプルな信頼性の高い標識技術

タンパク質の蛍光標識技術の出現によって、生細胞内における正確なタンパク質の局在性や動態を観察する手段ができたことで細胞生物学は大きな革新を遂げました。この技術の進展に伴い、スペクトルが異なる蛍光ラベルが数多く入手できるようになり、それを検出する顕微鏡も進化しました。実際、単一の細胞において異なる蛍光を共に使用する洗練された研究が、現在の文献では一般的に見られるようになりました。しかし、従来型の蛍光レポーター技術自体には、蛍光標識タンパク質を作成するために目的の遺伝子に蛍光タグ配列を融合させるためのクローニングがその都度必要であるという1つの根本的な問題が依然として存在しています。言い換えると、目的のタンパク質に望みの“蛍光色”を有するタグを付けるために異なるコンストラクトを作成する必要があります。HaloTag® labeling technologyでは、生物学者にとってのこのような時間のかかる問題を解決することができます。

[本誌9ページ参照] Full text → http://www.promega.com/pnotes/101/17252_05/17252_05.pdf

TNT® T7 Quick Coupled Transcription/Translation System-汎用的T7プロモーター含有ベクターを用いた迅速なタンパク質発現スクリーニング

多くの汎用されるT7プロモーター含有タンパク質発現ベクターからTNT® T7 Quick Coupled Transcription/Translation SystemおよびNon-RI標識法を用いて検出可能なタンパク質を発現させることができます。本稿で我々は16種類の異なるタンパク質発現ベクターで7種類の標的タンパク質を発現させたデータをまとめ、TNT® T7 Quick Coupled Transcription/Translation Systemで迅速、簡便にタンパク質の発現をスクリーニングできる能力について検証しました。

Full text → http://www.promega.com/pnotes/101/17252_08/17252_08.pdf

S30 T7 High-Yield Protein Expression Systemを用いたタンパク質合成の最適化ガイド

S30 T7 High-Yield Protein Expression Systemを用いた際の最適なタンパク質収量は、様々な変動要素に依存します。最適な発現ベクターの使用、良質な鋳型DNAの調製、反応に加える鋳型の適正量、標的タンパク質に対する最適な反応時間と温度などが挙げられます。また、コドン変更、ドメインや融合タグの切除などタンパク質コード配列の組み換え操作も検討項目として考えられます。

[本誌6ページ参照] Full text → http://www.promega.com/pnotes/101/17252_10/17252_10.pdf

GoTaq® Hot Start Green Master Mixを用いた組み換えクローンのスクリーニング

本稿では、新しいGoTaq® Hot Start Green Master Mixを用いた、プレート上の単一コロニーあるいはミニスケールの調製プラスチックからの組み換えクローンスクリーニングについて紹介します。マスターミックスには、直接ゲルに添加するための成分が含まれており、簡便で迅速なPCRセットアップを可能にします。GoTaq® Hot Start Polymerase技術を用いれば、室温でセットアップすることができ、PCR反応サイクルまでの最大24時間 室温で保存することができます。

[本誌12ページ参照] Full text → http://www.promega.com/pnotes/101/17252_13/17252_13.pdf

より良いサイエンスのために：細胞株の同一性認証

既に発表された研究結果が再現可能であることは、科学研究において発見を確認・裏付ける上で重要です。もしデータが再現できなければ、研究者はその研究の継続について疑問が生じることになります。多くの生物医学研究では、American Type Culture Collection (ATCC) のような保存機関あるいは共同研究者から入手した培養細胞が使われています。そのうち推定15-20%で、実験に用いた細胞株の誤同定や他の細胞株とのクロスコンタミネーションが起きていると考えられています。認証試験の結果、ATCC、Coriell Institute for Medical Research、European Collection of Cell Cultures (ECACC)、Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ)、Japanese Collection of Research Resources (JCRB) は全て、寄託者が誤同定した細胞株を受け入れていることが確認されました。それに加え、幹細胞株の場合は、幹細胞の増殖に必要なフィーダー細胞層を構成しているマウス細胞とのコンタミネーションが起こります。コンタミネーションや誤同定は、明らかにこれらの細胞を使用して出された学術論文の質や、研究結果の正当性に対して非常に大きな脅威をもたらす可能性があります。このような理由から、現在では多くの保存機関が寄託された細胞株認証を行い、クロスコンタミネーションがないかどうかをモニターしています。

[本誌14ページ参照] Full text → http://www.promega.com/pnotes/101/17252_15/17252_15.pdf

昆虫およびウサギの無細胞ライセートを用いた哺乳動物タンパク質の発現

TNT®システムのような真核生物無細胞タンパク質発現システムは、迅速なタンパク質発現を可能にする方法で、しかもバクテリアで発現したときに見られるような不溶化の問題を避けることができます。可溶性でかつ機能を持ったタンパク質を、プラスミドDNAから1~4時間で得ることができます。本稿では、発現の困難な10種類のタンパク質を取り上げ、TNT® T7 Insect Cell ExtractとTNT® Quick Coupled Transcription/Translation Systemを用いて真核無細胞発現の利点を示します。

[本誌3ページ参照] Full text → http://www.promega.com/pnotes/101/17252_19/17252_19.pdf