

# ベクター関連情報

## タンパク質分解配列の有無（配列ワード：hPEST）

タンパク質分解配列により、細胞内でのルシフェラーゼタンパク質の寿命が短くなる。そのため細胞内にルシフェラーゼの蓄積が少なくなり、発現の誘導、停止の応答性が観察できるようになっている。細胞の種類によるが、タンパク質分解配列のない場合のルシフェラーゼタンパク質の寿命は3-6時間程度であるのに対して、hPESTの付加で1時間、hCL-1-hPESTの場合には、0.5時間程度となり、ある刺激がある場合のみ発現する。

## 細胞株樹立用、薬剤選択マーカー（配列ワード：Hygro、Neo）

目的配列を含む遺伝子を染色体に組み込んだ安定発現細胞株を作成することにより、一過的な遺伝子導入をする必要がなくなる。また遺伝子導入効率補正のための、ウミシイタケルシフェラーゼベクターや、Dual-Luciferase assayが必要なくなる。

## エンハンサー、転写促進因子解析用ベクター（配列ワード：minP）

最小プロモーター(minP)+エンハンサー、転写促進因子結合配列を作ることにより、エンハンサーや転写促進因子の活性を調べることができる。minPは、従来の最小プロモーターと呼ばれるものより、バックグラウンドのプロモーター活性は低く、解析目的配列に対して高い誘導倍率で解析できる。

## 分泌シグナルの付加（配列ワード：IL-6）

secNlucにはIL-6分泌シグナル配列が付加されており、発現したNanoLuc(TM)ルシフェラーゼは細胞外に分泌されます。培地をサンプルとしてレポーターアッセイが行えるため、継続的なデータを得ることができ、細胞も生きてそのまま保持されるため、別のアッセイをエンドポイントで実施することもできます。NanoLuc(TM)は他社の分泌型ルシフェラーゼに比べ自己発光が飛躍的に抑えられているため、高いS/N比が得られます。分泌型のアッセイは同一サンプルプレートにおける経時的なアッセイやマルチアッセイなど利便性に優れますが、これまで自己発光によるバックグラウンドが大きな課題でした。NanoLuc(TM)はグロータイプの発光（長時間発光）を示しますが、他社のフラッシュタイプの光と同等の高い発光レベルを示すとともに、バックグラウンドが最小限に抑えられているため、分泌型の利点を最大限発揮させることができます。

## NanoLuc® ルシフェラーゼ（配列ワード：Nluc）

NanoLuc™（Nluc）はトゲオキヒオドシエビ（Oplophorus gracilirostris）由来のルシフェラーゼで、発光レポーターとして最適なパフォーマンスを発揮するために改変された分子量の小さな発光酵素（19.1kDa）です。このルシフェラーゼはホタルやウミシイタケのものより約150倍明るく、高レベルの発光を長時間維持するための新規な基質furimazineを用いて測定します。発光反応はATP非依存性で、最大の感度を得るためにバックグラウンド発光が抑えられるようにデザインされています。発光値はNano-Glo™ Luciferase Assay Reagentで測定した場合、6桁以上のダイナミックレンジを有しており、シグナルの半減期は2時間以上です。

## フレキシクロニングシステム（配列ワード：Flexi）

2つのレアカッター制限酵素SgfIおよびPmeIを利用したシンプルで強力なディレクショナルクロニングシステムです。これらのシステムにより、様々なFlexi® Vector間におけるタンパク質コード配列を迅速で効率よく正確に移し換えることができます。全てのFlexi® Vectorには致死性のパーナーゼ遺伝子が組み込まれており、目的とするDNA断片との置換によりポジティブセレクションが行えます。一度Flexi® Vectorにクロニングされれば、他の機能を有するFlexi® Vectorにサブクロニングする際もSgfIおよびPmeIで切り出すことにより方向性、読み枠を維持したまま移すことができ、確認のために再度シークエンシングを行う

## 偽陽性検出用タンデムレポーター（配列ワード：luc2-P2A-NlucP）

同じmRNA転写物からホタルルシフェラーゼ（luc2）とPEST不安定化ドメインが融合したNanoLuc®(NlucP)の両方を発現するようにデザインされたタンデムレポーター。2つのレポーター遺伝子は豚テシオウイルス-1（Porcine teschovirus）由来のP2A配列を介して繋がっており、このP2A配列によりリボソームスキップ機構が促進され、2つルシフェラーゼ酵素は単独に当量発現する。化合物のハイスループットスクリーニングで使用すれば、どちらか片方のルシフェラーゼと化合物との直接相互作用による偽陽性を、両方のルシフェラーゼで同様の反応を示す真の陽性と区別することができる。

## 偽陽性検出用タンデムレポーター（配列ワード：luc2-P2A-NlucP）

同じmRNA転写物からホタルルシフェラーゼ（luc2）とPEST不安定化ドメインが融合したNanoLuc®(NlucP)の両方を発現するようにデザインされたタンデムレポーター。2つのレポーター遺伝子は豚テシオウイルス-1（Porcine teschovirus）由来のP2A配列を介して繋がっており、このP2A配列によりリボソームスキップ機構が促進され、2つルシフェラーゼ酵素は単独に当量発現する。化合物のハイスループットスクリーニングで使用すれば、どちらか片方のルシフェラーゼと化合物との直接相互作用による偽陽性を、両方のルシフェラーゼで同様の反応を示す真の陽性と区別することができる。

## シグナル伝達解析用ベクター（配列ワード：NF-KB-RE）

最小プロモーター(minP)+エンハンサーで、構成されている。細胞内シグナルは、遺伝子発現を誘導する場合に、特定のエンハンサーを活性化することが知られている。これらのベクターを使うことで、各種のシグナル伝達経路のアウトプットを簡便に検出、定量化できる。