

(タンパク質合成試薬は添付されていません)

In vitro research use only
開封前保存温度：-80°C

Introduction

1. PUREfrex®について

PUREfrex® は、PURE system を基に開発された再構成型無細胞タンパク質合成キットです。PUREfrex® に、目的のタンパク質をコードする DNA (または mRNA) を添加してインキュベートするだけで、目的タンパク質を合成できます。

PURE system は、東京大学大学院の上田卓也教授のグループにより開発された再構成型無細胞タンパク質合成系で、転写・翻訳・エネルギー再生に必要なタンパク質、リボソームを個別に精製した後、アミノ酸、NTP などと混合した合成系です (Ref. 1, 2)。精製因子を混合した反応液を使用するため、組成を自由に調節できる、タンパク質合成に無関係なタンパク質をほとんど含まないなどの特長があります。

PUREfrex® は、反応液を構成するタンパク質、リボソーム、tRNA の調製方法を改良し、純度を高めた合成反応液です。特に、混入していた大腸菌由来のリポ多糖は、反応液 1 µL あたり 1 EU 未満にまで低減されています。また、RNase、β ガラクトシダーゼなどの混入タンパク質も減少しています。

PUREfrex® に含まれる翻訳因子などのすべてのタンパク質には、精製、検出用のタグ配列が付加されていません。そのため、タグ配列を付加したタンパク質を合成し、タグ配列により精製、検出することが可能です。

References) 1. Shimizu *et al.* (2001) *Nat. Biotechnol.*, vol. 19, p. 751
2. Shimizu *et al.* (2005) *Methods*, vol. 36, p. 299

2. EF-P について

EF-P (elongation factor P; 翻訳伸長因子 P) は大腸菌の翻訳因子の一つで、プロリン残基が連続した配列 (**Pro-Pro-Pro**、**Pro-Pro-Gly** など) のペプチド結合形成反応を促進し、翻訳効率を向上させることが知られています。

EF-P やそのホモログ (eIF5A) は、細菌や古細菌、真核生物に広く存在しています。また、EF-P は 34 位リジン側鎖に β リシル化という翻訳後修飾を受けることで、より効果が高まることも解っています。

現行の PUREfrex®は、転写・翻訳反応に必要な最低限の因子のみで構成されており、EF-P は含まれていないため、プロリン残基が連続した配列を含むタンパク質は合成自体が難しい場合や、合成量が低い場合があります。このような場合、EF-P を添加することで合成量が増加するタンパク質もあります。

EF-P (#PFS052) は、34 位リジンに翻訳後修飾を受けた大腸菌由来の組換えタンパク質を含む、タンパク質合成用添加剤です。

Kit components

	容量	0.5		
• EF-P (Clear)	12.5 µL	×1		
	内容：40 µM EF-P (30% グリセロール溶液) 開封後保存温度：-20°C または -80°C *1			
• Dilution Buffer (Clear)	500 µL	×1	×1	
	内容：30% グリセロール溶液 開封後保存温度：-20°C			

開封前の保存温度は、全て-80°C です。

*1) 使用後に残りの試薬を-80°C で凍結保存する場合、液体窒素（あるいはドライアイスとエタノールを混合した寒剤）で急速凍結してから保存してください。必要に応じて分注し、凍結融解の繰り返しをできるだけ避けてください。

Protocol

EF-P を添加したタンパク質合成は、任意の反応液量で行うことができます。例えば、PUREfrex® 2.1 (#PF213) を使用し、0.5 mM Cysteine、4 mM GSH、1 µM EF-P を添加して、液量 20 µL で合成する場合、以下のように反応液を調製してください。

1. Solution I、Cysteine、GSH を、室温～37°C で 5 分間ほど温めて完全に溶解し、室温に置きます。
2. Solution II、Solution III および EF-P を氷上で融解します。
3. 融解した Solution I、II、III、Cysteine、GSH、EF-P を軽くボルテックスした後、遠心して内容物をチューブ下部に集めます。
4. 以下のように反応液を調製します。
(DNA は 1 kbp あたり 0.5-3 ng/µL になるように添加してください。)

Water	6.5-X	µL
Solution I	8	µL *2
Cysteine	1	µL
GSH	1	µL
Solution II	1	µL
Solution III	2	µL
EF-P (40 µM)	0.5	µL *3
Template DNA	X	µL
Total	20	µL

5. 37°C で 4～6 時間反応させて、タンパク質を合成します。
6. 合成されたタンパク質を、それぞれの目的に使用します。

*2) PUREfrex® 1.0 (#PF001)、PUREfrex® 2.0 (#PF201) とは使用量が異なりますので、ご注意ください。

*3) EF-P の必要濃度は、合成するタンパク質によって異なります。必要濃度が不明な場合は、0.1～2 µM で検討してください。希釈が必要な場合は、添付の Dilution Buffer を使用してください。

Note

EF-P は研究用試薬です。ヒトを含む動物などへの投与、臨床、診断などの用途への使用を禁じます。また、食品、家庭用には使用しないでください。

EF-P を使用する際には、RNase フリーの水、試薬、器具類を使用してください。また、手袋、マスクの着用をお勧めします。

PUREfrex は、ジーンフロンティア株式会社の登録商標（第 5443077 号）です。商用利用をご希望の場合は、事前に弊社までお問い合わせください。

e-mail : purefrex@genefrontier.com

Distributor

人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東洋駅前ビル
URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>

● 営業部 (お問い合わせ)
TEL : (03) 5632-9610 FAX : (03) 5632-9619
TEL : (03) 5632-9620

Manufacturer

 GeneFrontier
www.genefrontier.com

ジーンフロンティア株式会社
〒277-0005 千葉県柏市柏 273-1 シャープ柏ビル 4F