

# GroE Mix

## #PF004-10

5 x 2 mL 反応用

Lot :

Expiry Date :

- GroE Mix は、精製した大腸菌由来の GroEL、GroES の混合溶液です。
- **タンパク質合成試薬は含まれていません。**

*in vitro* research use only

開封前保存温度：-80℃

Sep 2021



## Kit components

開封前の保存温度は、すべて -80℃ です。

- **GroE Mix (Purple) 50  $\mu$ L x 5**  
内容：20 $\mu$ M GroEL, 40 $\mu$ M GroES<sup>\*1</sup>  
(30% グリセロール溶液)  
開封後保存温度：-80℃<sup>\*2</sup>
- **Dilution Buffer (Clear) 500  $\mu$ L x 1**  
内容：30% グリセロール溶液  
開封後保存温度：-20℃

\*1)

GroELは14量体、GroESは7量体とした濃度です。  
GroE Mix の標準的な使用温度は0.5  $\mu$ M GroEL, 1  $\mu$ M GroES ですが、  
合成するタンパク質により、最適濃度が異なる可能性があります。  
希釈が必要な場合は、添付の Dilution Buffer をご使用ください。

\*2)

使用後の残りの反応液を-80℃で保存する場合、液体窒素やドライアイス/  
エタノールなど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。

## Note

GroE Mix は研究用試薬です。ヒトを含む動物などへの投与、  
臨床、診断など他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。

GroE Mix 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。

## 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 東陽駅前ビル  
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

PUREfrefx は、ジーンフロンティア株式会社の登録商標 (登録商標 第  
5443077 号) です。

## Memo

## Introduction

### 1. PUREfrefx® について

PUREfrefx® 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。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)。反応液に、目的  
のタンパク質をコードする DNA (または mRNA) を添加して  
反応することにより、タンパク質を合成します。精製した因子  
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、  
翻訳など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。

PUREfrefx® は、反応液に含まれるタンパク質、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ボ多糖は、反応液 1  $\mu$ L あたり  
10<sup>-4</sup> EU 以下にまで低減されています。また、RNase、 $\beta$ 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。さらに、  
PUREfrefx® 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、  
あらゆるタグ配列を付加したタンパク質を合成し、タグにより  
精製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

## Protocol

GroE Mix は、PUREfrefx® (#PF001-0.25、#PF201-0.25) を  
用いたタンパク質合成反応で使用できます。例えば、  
PUREfrefx® を用いたタンパク質合成反応を 20  $\mu$ L で行う場合、  
以下のように添加して使用できます。

1. Solution I を 30℃で 1 分間温めて融解し、氷上に置きます。
2. Solution II、III 及び GroE Mix を氷上で融解します。
3. 融解した Solution I、II、III、GroE Mix 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/ $\mu$ L になるように添加して  
ください。)

	#PF001	#PF201
Water	8-X $\mu$ L	7-X $\mu$ L
Solution I	10 $\mu$ L	10 $\mu$ L
Solution II	1 $\mu$ L	1 $\mu$ L
Solution III	1 $\mu$ L	2 $\mu$ L
Template DNA	X $\mu$ L	X $\mu$ L
Total	19 $\mu$ L	19 $\mu$ L

## Introduction

### 2. GroE Mix について

リボソームで合成されたタンパク質が機能を発現するためには、  
正しい高次構造を形成する必要があります。合成されたタン  
パク質の高次構造の形成・維持に関与するタンパク質として  
Hsp70 や Hsp60 などの分子シャペロンが知られています。  
PUREfrefx® は、転写、翻訳反応に必要な因子のみから再構成  
されており、分子シャペロンは含まれておりません。そのため、  
合成するタンパク質によっては正しい高次構造形成ができず、  
不溶性となる場合もあります。このような場合、分子シャペロ  
ンを添加して合成することで可溶性となり、機能を発現するタ  
ンパク質もあります。

GroEL は大腸菌の Hsp60 で、一部の新生タンパク質の構造  
形成や、品質管理に必須であることが知られています。GroEL  
は 14 量体のダブルリング構造を持つ ATPase であり、7 量体  
の GroES と協調して働きます。

GroE Mix は、高度に精製した大腸菌由来の GroEL、GroES  
を適切な濃度比であらかじめ混合した溶液です。PUREfrefx®  
(#PF001-0.25、#PF201-0.25) を用いたタンパク質合成時に  
添加することにより、単独では高次構造を形成しにくいタンパ  
ク質を活性を有した状態で合成しやすくします。

## Protocol

5. 37℃で 15 分反応させます。<sup>\*3</sup>
6. Dilution Buffer で 2 倍希釈した GroE Mix を、1  $\mu$ L 加え  
ます。<sup>\*4</sup>
7. 37℃で、さらに 2~4 時間反応させて、タンパク質を合成し  
ます。
8. 合成されたタンパク質を、それぞれの目的に使用します。

\*3)

GroE Mix の添加により、転写が阻害されるタンパク質があります。  
標準プロトコルとしては、GroE Mix の添加前に 37℃で 15 分のインキュベ  
ートを推奨しています。

\*4)

GroE Mix の必要量は、合成するタンパク質によって異なる場合があります。  
希釈が必要な場合は、添付の Dilution Buffer で GroE Mix を  
希釈して使用してください。