

EF-P

#PFS052-0.5 500 µL 反応用

(タンパク質合成試薬は添付されていません)

Lot: _____

Expiry Date: _____

in vitro research use only

開封前保存温度: -80°C

Jun 2020

 ジーンフロンティア株式会社
www.genefrontier.com

〒277-0005
千葉県柏市柏 273-1
シャープ柏ビル 4階

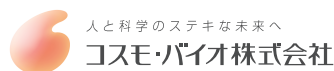
Note

EF-P、PUREfrefx®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。

PUREfrefx®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。

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。

Distributor



〒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

Introduction

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。PUREfrefx® 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。

PUREfrefx® 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 0.1 EU 程度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。

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、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

Introduction

EF-P について

EF-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。真核生物には、同様の役割を果たすホモログとして eIF5A が存在しています。

現行の PUREfrefx® は、転写・翻訳反応に最低限必要な因子のみから再構成され、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、合成量が低い場合があります。このような場合、EF-P を添加して合成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 (#PFS052-0.5) は、活性に必要な翻訳後修飾 (βリシル化) を有する精製 EF-P の溶液で、500 µL の反応に充分な量が含まれています。

Kit components

- EF-P*1 **12.5 µL**
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*2
- Dilution Buffer **500 µL**
内容: 30% グリセロール溶液
開封後保存温度: -20°C

Kit components

開封前の保存温度は、すべて -80°C です。

*1)
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、EF-P 濃度を 0.1 ~ 2 µM として検討してください。希釈が必要な場合は、添付の Dilution Buffer を使用してください。

*2)
使用後の残りの反応液を -80°C で凍結保存する場合、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。また、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、PUREfrefx® 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 1 分間ほど温めて完全に融解し、氷上に置きます。
2. Solution II、Solution III、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*3
Cysteine	1 µL
GSH	1 µL
Solution II	1 µL
Solution III	2 µL
EF-P (40 µM)	0.5 µL
Template DNA	X µL
Total	20 µL

5. 37°C で 2 - 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。

Protocol

*3)
PUREfrefx® 1.0 (#PF001)、PUREfrefx® 2.0 (#PF201) とは使用量が異なりますので、注意してください。