



タンパク質発現ベクター PROTEIN EXPRESSION VECTORS



アデノウイルスによる遺伝子導入とTAPによる相互作用タンパク質の精製

問題点 Problem

相互作用している未知のタンパク質を精製する際に、FLAGやGSTを用いたプルダウン法では十分な純度が得られませんでした。また、従来のTAP法では高純度での精製は可能でも、使用できる細胞株が限られていたり、タンパク質の発現が低レベルであったりと、様々な問題点がありました。

解決法 Solution

ストラタジーン社の新製品 InterPlay™ Adenoviral TAP Systemは、アデノウイルスを用いた遺伝子導入システムであるAdEasy™ XL Adenoviral Vector Systemと弊社独自のTandem Affinity Purification (TAP) システムとを組み合わせたシステムで、非分裂細胞を含む幅広い哺乳類細胞への高効率での遺伝子導入、高レベルでのタンパク質発現、相互作用タンパク質の高純度での精製を可能にしました。

相互作用タンパク質の精製

ストラタジーン社の新製品 InterPlay™ Adenoviral TAP System で採用されているTAP法は、InterPlay™ Mammalian TAP Systemで用いられているTAP法と同じ原理で、哺乳類細胞で発現させた目的のタンパク質（ベイト）と相互作用するタンパク質を、結合を乱さずに回収することができます。

この斬新な精製方法では、まず2つのアフィニティー・タグ（SBP：ストレプトアビジン結合ペプチドとCBP：カルモジュリン結合ペプチド）と融合したベイトを哺乳類細胞で発現させます。次にストレプトアビジン・レジンとカルモジュリン・レジンによる二段階の精製を行います（図1）。これらの洗浄と溶出は非常に穏やかなので、タンパク質間の相互作用に対する影響は最小限に抑えられます。また、SBPとCBPはそれぞれビオチンとEGTAによりアフィニティー・レジンから容易に溶出されるため、タンパク質分解酵素を用いて溶出する必要がなく、相互作用しているタンパク質の複合体を高純度で精製することが可能です。

アデノウイルスによる遺伝子導入

InterPlay™ Adenoviral TAP Systemsは InterPlay™ Mammalian TAP SystemsのTAPタグとアデノウイルス遺伝子導入システムであるAdEasy™ XL Adenoviral Vector Systemを組み合わせたシステムです。アデノウイルス・ベクターは一般的なトランスフェクション法と比べ、分裂・非分裂細胞に関係なく、幅広い哺乳類細胞に目的遺伝子を導入することができます。組換えアデノウイルスは高い力価（トランスフェクション後 $10^7 \sim 10^8$ pfu/ml）をもたらすことから、発現タンパク質の高い収量を実現します。

AdEasy™ XL Adenoviral Vector Systemにはヒト・アデノウイルスやヒト由来の細胞株を使用するため、ヒト由来のタンパク質を大量に発現することができ、正確な翻訳後修飾や折りたたみ構造を再現します。本システムでは pTAP shuttle vectorに最大6.6kbのDNAを組み込むことができ、アデノウイルスはepichromosomalに留まることから、宿主細胞の遺伝子を活性化あるいは不活性化することはほとんどありません。

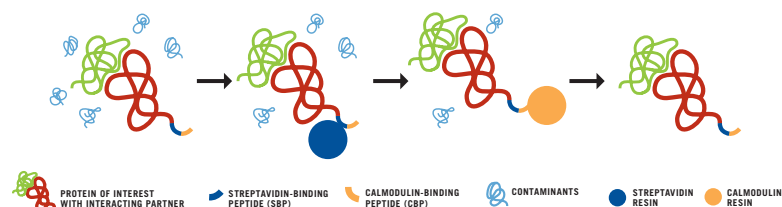
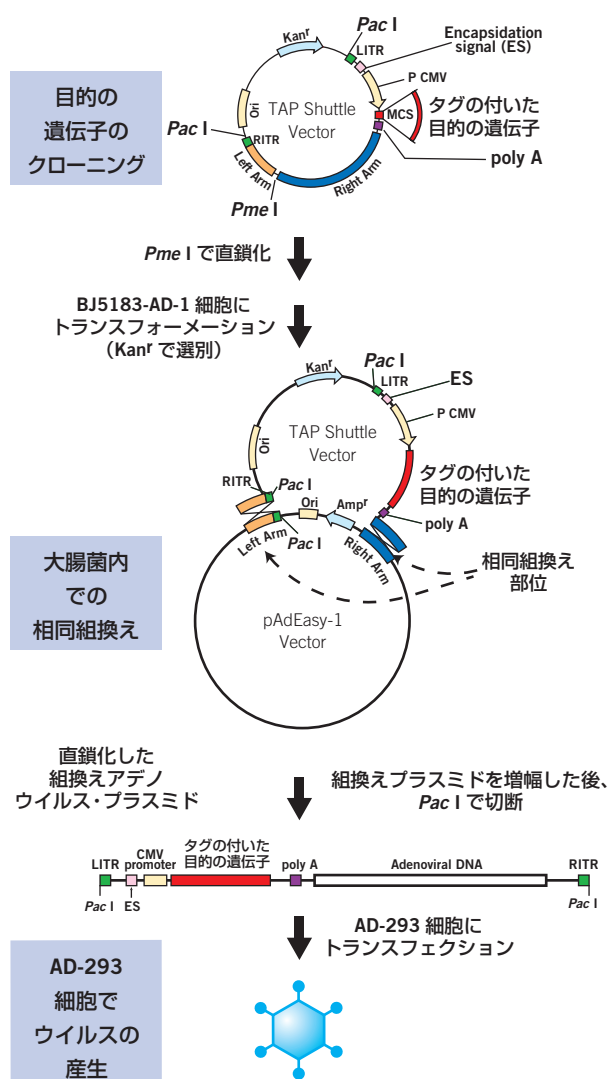


図1 TAP法の模式図

図2 InterPlay™ Adenoviral TAP Systemのメカニズム

InterPlay™ Adenoviral TAP System			
製品	カタログ#	内容	価格(税別)
InterPlay™ Adenoviral N-Terminal TAP System	240213	N末用#240214を含む一式	¥356,000
InterPlay™ Adenoviral N-Terminal TAP Vectors	240214	N末用シャトル・ベクターのみ	¥106,000
InterPlay™ Adenoviral C-Terminal TAP System	240215	C末用#240216を含む一式	¥356,000
InterPlay™ Adenoviral C-Terminal TAP Vectors	240216	C末用シャトル・ベクターのみ	¥106,000