

ProCube™ アプリケーションノート No.22

活性型キナーゼの調製

AKT1はセリン/スレオニンキナーゼの一つであり、生存や運動、グルコース代謝など様々な細胞の活動に関与し、これらの調節に働く重要な因子です。このキナーゼは分子内の2ヶ所がリン酸化され活性化することが報告されています。ProCube™サービスで使用しているカイコバキュロウイルス発現系は糖鎖付加など翻訳後修飾を受けたタンパク質が生産可能であり、今回、この発現系を用いて活性型AKT1の発現を試みました。

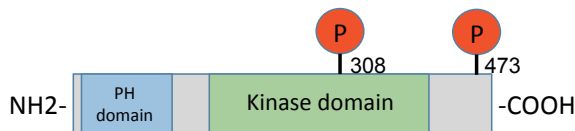


図1 AKT1の模式図

Thr308、およびSer473の2ヶ所がリン酸化されることで活性化する。
 PH domain: Pleckstrin homology domain

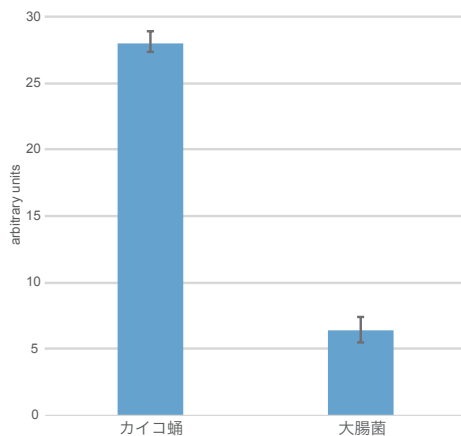


図2 精製 AKT1 活性測定

FLAG[®]-tag付加AKT1をカイコ蛹、および大腸菌で発現させaffinity精製を行い、精製タンパク質1μgを活性測定に用いた。

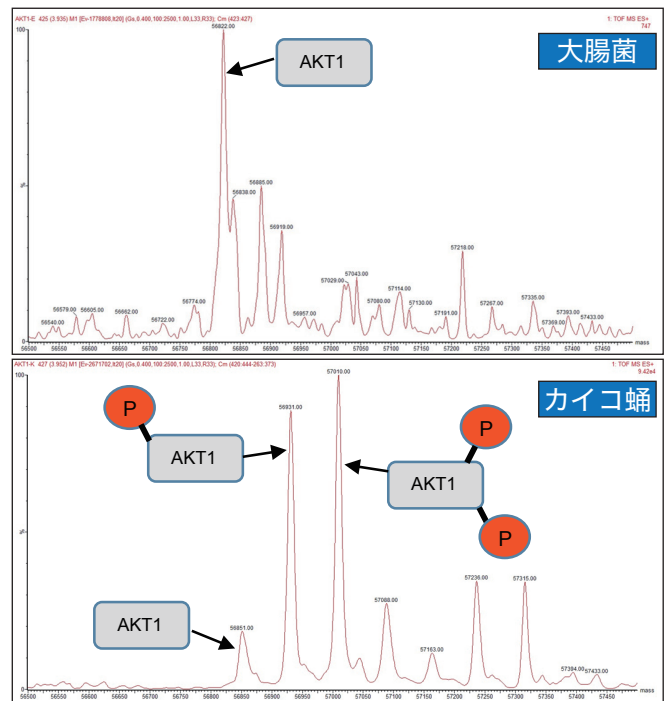


図3 精製AKT1のMS解析

大腸菌では活性を持つAKT1は調製できなかったが、カイコ蛹を用いることで活性型AKT1の調製に成功した。カイコバキュロウイルス系はリン酸化によって活性化するキナーゼの発現に有用であることが示された。

ProCube™ カイコバキュロウイルス発現系を用いたリコンビナントタンパク質生産サービス

Harness the Power of Nature



ProCube™ についての詳細は procube.sysmex.co.jp

メールでのお問い合わせは ... procube.japan@sysmex.co.jp

製造販売元

シスメックス株式会社

本社 神戸市中央区脇浜海岸通 1-5-1 〒651-0073
 研究開発センター 神戸市西区室谷 1-1-2 〒651-2241 Tel 078-991-2212 Fax 078-992-1082
 ソリューションセンター 神戸市西区室谷 1-3-2 〒651-2241 Tel 078-991-2091 Fax 078-997-9976
 東京支社 東京都品川区大崎 1-2-2 〒141-0032 Tel 03-5434-8556 Fax 03-5434-8557

www.sysmex.co.jp



注：活動及びサイトの適用範囲は規格により異なります。
 詳細は www.tuv.com の ID 0910589004 を参照。
 Notes: Scopes of sites and activities vary depending on the standard.
 For details, refer to the ID 0910589004 at www.tuv.com