

ProCube™ アプリケーションノート No.2

GPR177 isoform 1 の発現事例

創薬研究のターゲット探索として、活性型膜タンパク質の大量発現技術が必要とされています。今回、膜タンパク質の1種であるGPR177 isoform 1に精製配列であるDock配列を融合させた融合タンパク質を、カイコ-バキュロウイルス発現系を用いて発現・精製を行いました。Dodecyl-β D-maltopyranosideを可溶化剤として用い、Pro-Q Diamond Phosphoprotein染色にて活性の有無を確認したところ、目的バンドの染色が確認されました。このことは得られたGPR177 isoform 1が活性型であることを示しています。

カイコ-バキュロウイルス発現系を用いて膜タンパク質の研究に活用されることが期待されます。



図1 GPR 177 isoform 1の遺伝子デザイン

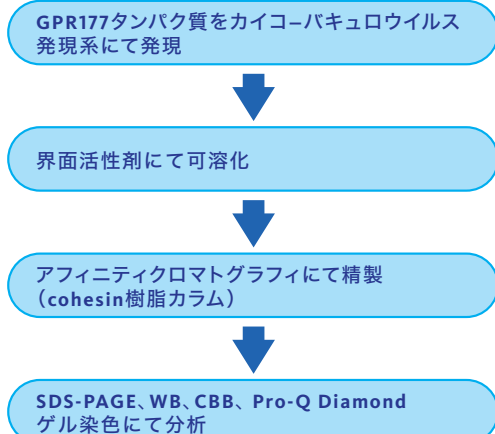


図2 発現・精製スキーム

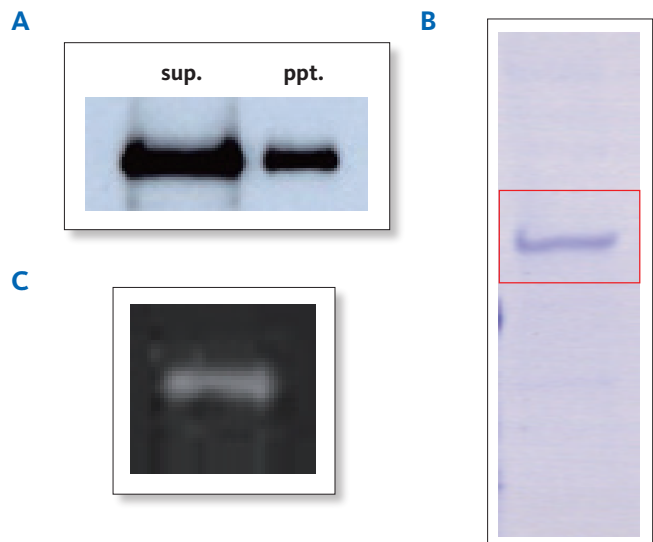


図3 SDS-PAGEによるGPRの発現確認

(界面活性剤：Dodecyl-β D-maltopyranoside)

- A : Western Blotting (存在の確認) による結果 (Anti-Dock Antibody) sup. : 可溶化画分、ppt. : 沈殿画分
- B : CBB染色 (純度の確認) による結果
- C : Pro-Q Diamond (リン酸化活性の確認) による結果

N末端にDock配列を入れたGPR177 isoform 1 は可溶化部分に回収され、リン酸化活性を有していることがわかった。

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 <http://procube.sysmex.co.jp/> メールでのお問合せは ... 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
 テクノパーク 神戸市西区高塚台4-4-4 〒651-2271
 東京支社 東京都品川区大崎 1-2-2 〒141-0032

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