

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。

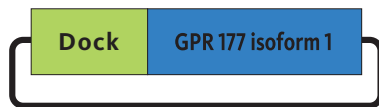
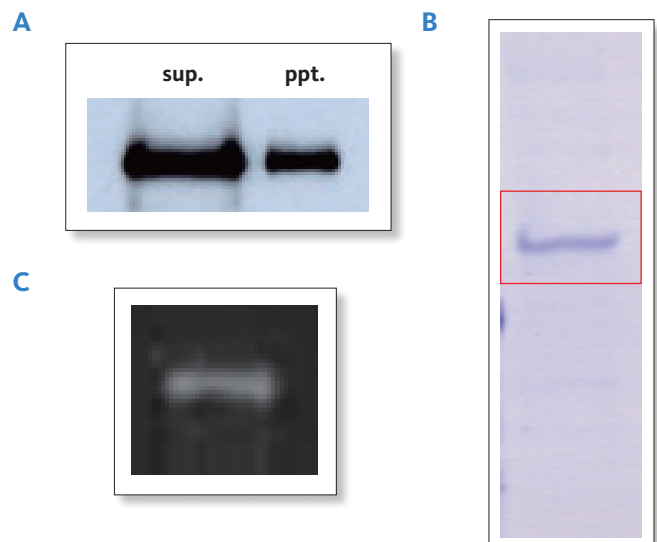


図1 GPR 177 isoform 1の遺伝子デザイン



図2 発現・精製スキーム



(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

図3 SDS-PAGEによるGPRの発現確認

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™ についてのお問い合わせ：<http://procube.sysmex.co.jp>

E-mail 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

(お問い合わせ先)

クリニカルインベション本部 神戸市西区高塚台4-4-4 〒651-2271 Tel 078-991-2367 Fax 078-992-3284

www.sysmex.co.jp