

GroE Mix

#PF004-10

5 x 2 mL 反応用

Lot :

Expiry Date :

- GroE Mix は、精製した大腸菌由来の GroEL、GroES の混合溶液です。
- **タンパク質合成試薬は含まれていません。**

in vitro research use only

開封前保存温度：-80℃

Sep 2021



Kit components

開封前の保存温度は、すべて -80℃ です。

- **GroE Mix (Purple) 50 μ L x 5**
内容：20 μ M GroEL, 40 μ M GroES^{*1}
(30% グリセロール溶液)
開封後保存温度：-80℃^{*2}
- **Dilution Buffer (Clear) 500 μ L x 1**
内容：30% グリセロール溶液
開封後保存温度：-20℃

*1)
GroELは14量体、GroESは7量体とした濃度です。
GroE Mix の標準的な使用温度は0.5 μ M GroEL, 1 μ M GroES ですが、
合成するタンパク質により、最適濃度が異なる可能性があります。
希釈が必要な場合は、添付の Dilution Buffer をご使用ください。

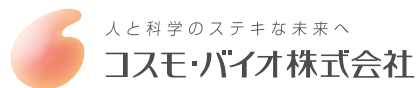
*2)
使用後の残りの反応液を-80℃で保存する場合、液体窒素やドライアイス/
エタノールなどで急速凍結してから保存してください。必要に応じて分注し、
凍結融解の繰り返しをできるだけ避けてください。

Note

GroE Mix 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。

GroE Mix 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。

Distributor



人と科学のステキな未来へ

コスモバイオ株式会社

〒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

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。

Memo

Introduction

1. 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。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)。反応液に、目的
のタンパク質をコードする DNA (または mRNA) を添加して
反応することにより、タンパク質を合成します。精製した因子
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、
翻訳など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、反応液に含まれるタンパク質、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ボ多糖は、反応液 1 μ L あたり
10⁻⁴ EU 以下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。さらに、
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、
あらゆるタグ配列を付加したタンパク質を合成し、タグにより
精製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

Protocol

GroE Mix は、PUREfrefx® (#PF001-0.25、#PF201-0.25) を
用いたタンパク質合成反応で使用できます。例えば、
PUREfrefx® を用いたタンパク質合成反応を 20 μ L で行う場合、
以下のように添加して使用できます。

1. Solution I を 30℃で 1 分間温めて融解し、氷上に置きます。
2. Solution II、III 及び GroE Mix を氷上で融解します。
3. 融解した Solution I、II、III、GroE Mix 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/ μ L になるように添加して
ください。)

	#PF001	#PF201
Water	8-X μ L	7-X μ L
Solution I	10 μ L	10 μ L
Solution II	1 μ L	1 μ L
Solution III	1 μ L	2 μ L
Template DNA	X μ L	X μ L
Total	19 μ L	19 μ L

Introduction

2. GroE Mix について

リボソームで合成されたタンパク質が機能を発現するためには、
正しい高次構造を形成する必要があります。合成されたタン
パク質の高次構造の形成・維持に関与するタンパク質として
Hsp70 や Hsp60 などの分子シャペロンが知られています。
PUREfrefx® は、転写、翻訳反応に必要な因子のみから再構成
されており、分子シャペロンは含まれておりません。そのため、
合成するタンパク質によっては正しい高次構造形成ができず、
不溶性となる場合もあります。このような場合、分子シャペロ
ンを添加して合成することで可溶性となり、機能を発現するタ
ンパク質もあります。

GroEL は大腸菌の Hsp60 で、一部の新生タンパク質の構造
形成や、品質管理に必須であることが知られています。GroEL
は 14 量体のダブルリング構造を持つ ATPase であり、7 量体
の GroES と協調して働きます。

GroE Mix は、高度に精製した大腸菌由来の GroEL、GroES
を適切な濃度比であらかじめ混合した溶液です。PUREfrefx®
(#PF001-0.25、#PF201-0.25) を用いたタンパク質合成時に
添加することにより、単独では高次構造を形成しにくいタンパ
ク質を活性を有した状態で合成しやすくします。

Protocol

5. 37℃で 15 分反応させます。^{*3}
6. Dilution Buffer で 2 倍希釈した GroE Mix を、1 μ L 加え
ます。^{*4}
7. 37℃で、さらに 2~4 時間反応させて、タンパク質を合成し
ます。
8. 合成されたタンパク質を、それぞれの目的に使用します。

*3)
GroE Mix の添加により、転写が阻害されるタンパク質があります。
標準プロトコルとしては、GroE Mix の添加前に 37℃で 15 分のインキュベ
ートを推奨しています。

*4)
GroE Mix の必要量は、合成するタンパク質によって異なる場合があります。
希釈が必要な場合は、添付の Dilution Buffer で GroE Mix を
希釈して使用してください。