Biology

MERCK

Protein Expression
タンパク質研究ガイド

- 発現編 -

大腸菌・昆虫細胞・真核細胞での発現

- pET ベクター
- コンピテントセル
- バキュロウイルス
- トランスフェクション試薬

Novagen®

The life science business of Merck operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®
Lab & Production Materials

protein expression
タンパク質研究ガイド

- 発現編 -

タンパク質発現関連製品の詳細はこちら
http://bit.ly/merck-proteinexpression

pET システム

pET システム は、大腸菌を用いた組換えタンパク質のクローニング・発現システムです。目的遺伝子は、pET プラスミド内のバクテリオファージ T7 由来の転写・翻訳シグナルの支配下にクローニングされます。リコンビナントタンパク質の発現は、宿主菌体に T7 RNA ポリメラーゼを発現誘導することで行なうため、宿主に対して毒性を示す可能性のあるタンパク質でも、誘導物質（IPTG）の濃度をコントロールすることで発現を調節することができます。

ベクター	プロモーター	セレクション	N 末タグ	C 末タグ	プロテアーゼ切断サイト	包装単位	カタログ番号
pET-3a DNA	T7	Amp	T7	none	none	10UG	69418-3
pET-3b DNA	T7	Amp	T7	none	none	10UG	69419-3
pET-3d DNA	T7	Amp	T7	none	none	10UG	69421-3
pET-9a DNA	T7	Kan	T7	none	none	10UG	69431-3
pET-9d DNA	T7	Kan	T7	none	none	10UG	69434-3
pET-11a DNA	T7 *lac*	Amp	T7	none	none	10UG	69436-3
pET-11d DNA	T7 *lac*	Amp	T7	none	none	10UG	69439-3
pET-17b DNA	T7	Amp	T7	none	none	10UG	69663-3
備考：N 末端に非切除型の T7・Tag を融合した目的タンパク質を発現させます。また、単一の BamHI クローニングサイトを 3 種類の読み枠でご提供しています（各 b、c、d シリーズ）。pET17b ベクターは単一の読み枠のマルチクローニングサイトを持っています。							
pET-14b DNA	T7	Amp	His	none	Tb	10UG	69660-3
pET-15b DNA	T7 *lac*	Amp	His	none	Tb	10UG	69661-3
pET-16b DNA	T7 *lac*	Amp	His	none	Xa	10UG	69662-3
pET-19b DNA	T7 *lac*	Amp	His	none	Ek	10UG	69677-3
備考：N 末端に His・Tag とプロテアーゼ認識部位を含む目的タンパク質を発現するようにデザインされています。							
pET-20b(+) DNA	T7	Amp	Signal Seq	His	SP	10UG	69739-3
pET-22b(+) DNA	T7	Amp	Signal Seq	His	SP	10UG	69744-3
pET-25b(+) DNA	T7 *lac*	Amp	Signal Seq	HSV/His	SP	10UG	69753-3
pET-26b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	Signal Seq	His	SP	10UG	69862-3
pET-27b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	Signal Seq	HSV/His	SP	10UG	69863-3
備考：目的タンパク質にペリプラズムへの輸送を促進するシグナル配列を融合してあります。ペリプラズムは、ジスルフィド結合を促進し、ある種のタンパク質の可溶性を高めます。							
pET-21(+) DNA	T7 *lac*	Amp	none	His	none	10UG	69770-3
pET-21a(+) DNA	T7 *lac*	Amp	T7	His	none	10UG	69740-3
pET-21b(+) DNA	T7 *lac*	Amp	T7	His	none	10UG	69741-3
pET-21c(+) DNA	T7 *lac*	Amp	T7	His	none	10UG	69742-3
pET-21d(+) DNA	T7 *lac*	Amp	T7	His	none	10UG	69743-3
pET-23(+) DNA	T7	Amp	none	His	none	10UG	69771-3
pET-23a(+) DNA	T7	Amp	T7	His	none	10UG	69745-3
pET-23b(+) DNA	T7	Amp	T7	His	none	10UG	69746-3
pET-23d(+) DNA	T7	Amp	T7	His	none	10UG	69748-3
pET-24(+) DNA	T7 *lac*	Kan	none	His	none	10UG	69772-3
pET-24a(+) DNA	T7 *lac*	Kan	T7	His	none	10UG	69749-3
pET-24b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	T7	His	none	10UG	69750-3
pET-24d(+) DNA	T7 *lac*	Kan	T7	His	none	10UG	69752-3
備考：N 末端に非切除型の T7・Tag を融合した目的タンパク質を発現させます。C 末端に His・Tag を付加することも可能です。3 種類の読み枠でご提供しています（各 b、c、d シリーズ）。							
pET-28a(+) DNA	T7 *lac*	Kan	His/T7	His	Tb	10UG	69864-3
pET-28b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	His/T7	His	Tb	10UG	69865-3
pET-28c(+) DNA	T7 *lac*	Kan	His/T7	His	Tb	10UG	69866-3
pET-29a(+) DNA	T7 *lac*	Kan	S	His	Tb	10UG	69871-3
pET-29b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	S	His	Tb	10UG	69872-3
pET-30a(+) DNA	T7 *lac*	Kan	His/T7	His	Tb, Ek	10UG	69909-3
pET-30b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	His/T7	His	Tb, Ek	10UG	69910-3
pET-30c(+) DNA	T7 *lac*	Kan	His/T7	His	Tb, Ek	10UG	69911-3
pET-30 Ek/LIC Vector Kit	T7 *lac*	Kan	His/T7	His	Tb, Ek	20 反応	69077-3
pET-30 Xa/LIC Vector Kit	T7 *lac*	Kan	His/T7	His	Tb, Ek	20 反応	70073-3
備考：N 末端に切除可能な His・Tag/T7・Tag（pET-28）, His・Tag/S・Tag（pET-30）または S・Tag のみ（pET29）を融合した目的タンパク質を発現させます。C 末端に His・Tag を付加することも可能です。3 種類の読み枠でご提供しています（各 b、c、d シリーズ）。							

ベクター	プロモーター	セレクション	N 末タグ	C 末タグ	プロテアーゼ切断サイト	包装単位	カタログ番号
pET-31b(+) DNA	T7 *lac*	Amp	KSI	His	none	10UG	69952-3
備考：100 アミノ酸までのペプチドおよび低分子量の発現に有効です。ケトステロイドイソメラーゼ（KSI）遺伝子の下流、His・Tag の上流に目的ペプチドの配列をクローニングします。誘導を行なうと合成された疎水性の KSI ペプチド His・Tag 融合タンパク質は、大腸菌細胞中で封入体を形成し目的配列を分解から保護します。回収は得られた封入体から目的タンパク質を溶出して行ないます。							
pET-32a(+) DNA	T7 *lac*	Amp	Trx/His/S	His	Tb, Ek	10UG	69015-3
pET-32b(+) DNA	T7 *lac*	Amp	Trx/His/S	His	Tb, Ek	10UG	69016-3
pET-32c(+) DNA	T7 *lac*	Amp	Trx/His/S	His	Tb, Ek	10UG	69017-3
pET-32 Ek/LIC Vector Kit	T7 *lac*	Amp	Trx/His/S	His	Tb, Ek	20 反応	69076-3
pET-32 Xa/LIC Vector Kit	T7 *lac*	Amp	Trx/His/S	His	Tb, Xa	20 反応	70072-3
備考：Trx・Tag（チオレドキシンタンパク質）を融合させ、高レベルの発現を可能にします。封入体を形成しやすいタンパク質を可溶化する際に最適です。							
pET-39b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	DsbA/Tag/His/S	His	SP, Tb, Ek	10UG	70090-3
pET-40b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	DsbA/Tag/His/S	His	SP, Tb, Ek	10UG	70091-3
備考：DsbA・Tag【pET39b(+)】または DsbC・Tag【pET40b(+)】を融合させ高レベルの発現を可能にします。DsbA と DsbC は、それぞれジスルフィド結合の形成を触媒するペロプラズム酵素です。							
pET-41a(+) DNA	T7 *lac*	Kan	GST/His/S	His	Tb, Ek	10UG	70556-3
pET-41b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	GST/His/S	His	Tb, Ek	10UG	70557-3
pET-41 Ek/LIC Vector Kit	T7 *lac*	Kan	GST/His/S	His	Tb, Ek	20 反応	71071-3
pET-42a(+) DNA	T7 *lac*	Kan	GST/His/S	His	Tb, Xa	10UG	70561-3
pET-42b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	GST/His/S	His	Tb, Xa	10UG	70562-3
備考：GST を融合させ、高レベルの発現を可能にします。封入体を形成しやすいタンパク質を可溶化する際に最適です。							
pET-43.1a(+) DNA	T7 *lac*	Amp	Nus/His/S	HSV/His	Tb, Ek	10UG	70939-3
pET-43.1b(+) DNA	T7 *lac*	Amp	Nus/His/S	HSV/His	Tb, Ek	10UG	70940-3
pET-43.1 Ek/LIC Vector Kit	T7 *lac*	Amp	Nus/His/S	HSV/His	Tb, Ek	20 反応	71072-3
pET-44a(+) DNA	T7 *lac*	Amp	His/Nus/His/S	HSV/His	Tb, Ek	10UG	71122-3
pET-44b(+) DNA	T7 *lac*	Amp	His/Nus/His/S	HSV/His	Tb, Ek	10UG	71123-3
pET-44c(+) DNA	T7 *lac*	Amp	His/Nus/His/S	HSV/His	Tb, Ek	10UG	71124-3
pET-45b(+) DNA	T7 *lac*	Amp	His	S	Ek	10UG	71327-3
備考：Nus・Tag（NusA タンパク質）を融合させ、高レベルの発現を可能にします。NusA タンパク質は、大腸菌データベースの 4000 以上のタンパク質を可溶性モデリングした結果、もっとも優れた可溶性ポテンシャルを有するタンパク質として同定された配列です。							
pET-47b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	His	S	3C, Tb	10UG	71461-3
pET-48b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	Trx/His	S	3C, Tb	10UG	71462-3
pET-49b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	GST/His	S	3C, Tb	10UG	71463-3
pET-50b(+) DNA	T7 *lac*	Kan	His/Nus/His	S	3C, Tb	10UG	71464-3
備考：N 末端あるいは C 末端に切除可能なタグを融合したタンパク質を発現させます。							
pET-51b(+) DNA	T7 *lac*	Amp	Strep/His	His	Ek	10UG	71553-3
pET-51 Ek/LIC Vector Kit	T7 *lac*	Amp	Strep/His	His	Ek	20 反応	71570-3
pET-52b(+) DNA	T7 *lac*	Amp	Strep/His	His	3C, Tb	10UG	71554-3
pET-52 3C/LIC Vector Kit	T7 *lac*	Amp	Strep/His	His	3C, Tb	20 反応	71571-3
備考：ビオチン - ストレプトアビジン結合の特異性を利用します。							
pETcoco™ -1 DNA	T7 *lac*	Cam	His/S	HSV	none	10UG	71129-3
pETcoco™ -2 DNA	T7 *lac*	Amp	His/S	HSV		10UG	71148-3
備考：T7 プロモーター制御タンパク質の発現様式の利点とプラスミドコピー数の制御能を併せもっています。0.2% グルコース存在下で pETcoco 組替えプラスミドは 1 コピーに保たれます。このシングルコピー状態ではバックグランドの発現および遺伝子の組替えや欠失はほぼ皆無であるため、pETcoco クローンは極めて安定です。プラスミド作製用には、培地に L- アラビノースを添加することによって、目的遺伝子の発現に依存せずにコピー数を細胞あたり約 40 コピーに増幅できます。目的遺伝子の発現は IPTG 添加によって誘導されます。							

略語　3C：HRV 3C peptide，Amp：Ampicillin，Cam：Chloramphenicol，Ek：Enterokinase，His：Histidine Tag，HSV：HSV tag，Kan：Kanamaycin，LIC：Ligation-Independent Cloning，S：S・Tag，Signal Seq：Signal Sequence，SP：Signal Peptidase，Strep：Streptavidine Tag，T7：T7・Tag，T7/*lac*：a promotor followed by a *lac* operetor sequence，Tb：Thrombin，Xa：Factor Xa

売れ筋

ピペットで適量を混ぜるだけ！
細胞ライセート調製もこれで安心
メルクのプロテアーゼ阻害剤カクテル

溶液タイプのプロテアーゼ インヒビターカクテルは、Lysis buffer を必要とする時にすぐに使用できます。このカクテル溶液には，セリンプロテアーゼ、アミノプロテアーゼ、システインプロテアーゼやアスパラギン酸プロテアーゼなど、細胞溶解液を作成する際のスタンダードプロテアーゼ阻害剤を含んでいます。インヒビターの要時調製や、ストック溶液を溶解させる煩雑な時間を無くし、再現性の高い細胞溶解液の作製を最短で実現します。

製品名	容量	カタログ番号
大腸菌破砕時に		
Protease Inhibitor Cocktail Set II	5 SET	539132-5SET
動物細胞破砕時に		
Protease Inhibitor Cocktail Set III	1 SET	539134-1SET
	1 ML	539134-1ML
His-Tag タンパク精製に		
Protease Inhibitor Cocktail Set VII	1 SET	539138-1SET

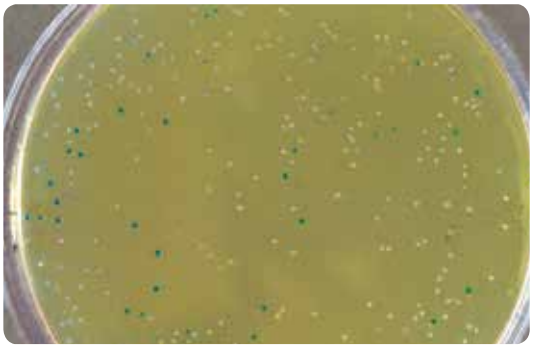
セット内容例：Protease Inhibitor Cocktail Set III（カタログ番号 539134-1ML）の場合

構成品	カタログ番号	Mol. Wt.	濃度	Target protease
AEBSF, Hydrochloride	101500	239.5	100 mM	Serine Proteases
Aprotinin, Bovine Lung, Crystalline	616370	6512	80 µM	Broad Spectrum, Serine Proteases
Bestatin	200484	308.4	5 mM	Aminopeptidase B and Leucine Aminopeptidase
E-64, Protease Inhibitor	324890	357.4	1.5 mM	Cysteine Proteases
Leupeptin, Hemisulfate	108975	475.6	2 mM	Cysteine Proteases and Trypsin-like Proteases
Pepstatin A	P5318	685.9	1 mM	Aspartic Proteases

宿主ラインナップ

DNA クローニング用宿主

DNA クローニングに適した大腸菌宿主として、*E.coli* K 12 株の NovaBlue、NovaBlue T1R、JM109 や DH5αなどがあります。これらの菌株は、*recA-endA* - で形質転換効率が高くプラスミドの収量も多いため、目的 DNA を pET ベクターでクローニングするのに便利な宿主であり、かつプラスミドの維持用にも適しています。NovaBlue は選択 F 因子をもっているため、ヘルパーファージ感染が可能であり、突然変異誘発に用いる一本鎖プラスミド DNA の作製が可能です（この性質をもつのは f1 複製開始点をもつプラスミドのみです）。また、NovaBlue T1R は NovaBlue 細胞と同じ特長をすべて備えてつつ、さらに T1 および T5 ファージに対し耐性であるという利点をもっています。



50 µL ずつ分注した使い切りタイプ

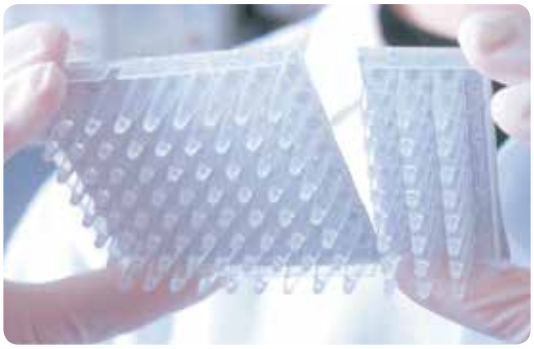
Singles™

製品名	形質転換効率	耐性遺伝子	由来	包装単位	カタログ番号
一般的な DNA クローニング用					
NovaBlue Singles Competent Cells	>1.5 × 10^8	Tet	K-12	11 rxn	70181-3
				22 rxn	70181-4
高効率の DNA クローニングに最適					
NovaBlue GigaSingles Competent Cells	>1.0 × 10^9	Tet	K-12	11 rxn	71227-3
				22 rxn	71227-4
動物由来物質非含有					
Veggie™ NovaBlue Singles Competent Cells	>1.5 × 10^8	Tet	K-12	11 rxn	71251-3
				22 rxn	71251-4
Veggie BL21(DE3) Singles Competent Cells	>1.5 × 10^8	Tet	K-12	11 rxn	71252-3
				22 rxn	71252-4
T1 and T5 ファージ耐性					
NovaBlue T1R Singles Competent Cells	>1.5 × 10^8	Tet	K-12	11 rxn	71318-3
				22 rxn	71318-4

ハイスループット性を求める方に

HT96 ™ Competent Cells Format

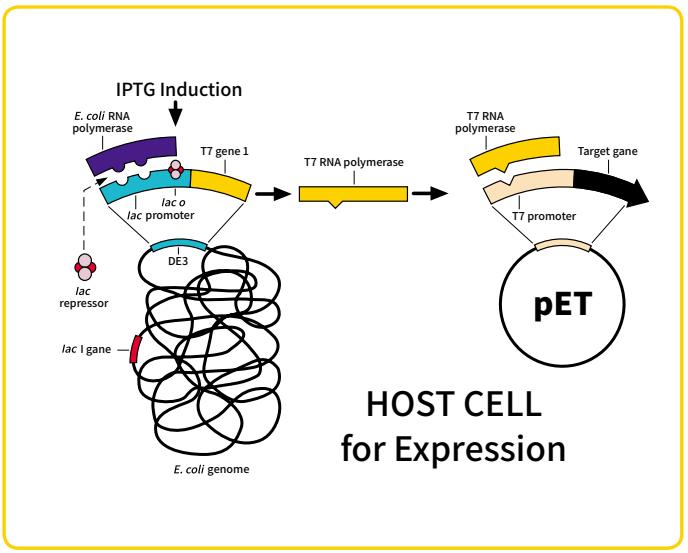
HT96 NovaBlue Competent Cells は、ハイスループットでタンパク質発現を行なうためにデザインされたコンピテントセルです。96 ウェルのポリプロピレン中に 20 µL ずつコンピテントセルが予め分注されており、形質転換反応を一度に行えるように、サーマルサイクラーに適した設計となっています。



製品名	形質転換効率	耐性遺伝子	由来	包装単位	カタログ番号
HT96 NovaBlue Competent Cells	>1.5 × 10^8	Tet	K-12	1 plate	71011-3
				4 plate	71011-4

タンパク質発現用宿主

大腸菌におけるリコンビナントタンパク質の産生は、T7 RNA ポリメラーゼ遺伝子の染色体コピーをもつ宿主大腸菌株に組換えプラスミドを導入することにより行います。これらの宿主は、バクテリオファージ DE3 の溶原菌です。このバクテリオファージは、ファージ 21 の免疫性領域をもち、*lac* I 遺伝子、*lac*UV5 プロモーター、T7 RNA ポリメラーゼ遺伝子が組込まれた DNA フラグメントをもつλ誘導体です（Studier and Moffat, 1996 ; Novy and Morris, 2001）。このフラグメントは int 遺伝子に挿入されており、そのためヘルパーファージの介在なしに DE3 が染色体に組込まれることも、染色体から切り離されることもありません。DE3 溶原菌が一度形成されると、T7 RNA ポリメラーゼ遺伝子を直接転写することができるプロモーターは、培地への IPTG 添加もしくは自動誘導培地の使用により誘導される *lac*UV5 プロモーターだけとなります。プロテアーゼ欠損、アミノ酸要求性、溶解度可溶性向上、使用頻度の低いコドンの補充などの特性によって、DE3 溶原菌株を選択します。



目的に応じてタンパク発現用宿主をお選びください

一般的なタンパク質発現

BL21(DE3)
BL21

タンパクの不溶化 / 不活性の改善

ジスルフィド結合の効率が悪く，正常にフォールドされたタンパクが得られない場合

Origami ™ 2
Origami 2(DE3)
Rosetta-gami ™ 2
Rosetta-gami 2(DE3)
Rosetta-gami B
Rosetta-gami B(DE3)

trxB/gor 宿主を用いた細胞質内でのタンパク質発現効率の改善

高レベルの発現誘導により正常にフォールドされたタンパクが得られない場合

Tuner ™
Tuner(DE3)
Rosetta-gami B
Rosetta-gami B(DE3)

lacY 欠失宿主を用いて IPTG 濃度依存型に誘導

ストレス性タンパク質の発現

タンパクが全く発現しない / 大腸菌が増殖しない場合

Tuner
Tuner(DE3)
NovaBlue
NovaBlue(DE3)

基底発現の抑制

レアコドン対策

大腸菌固有のコドン使用頻度の問題

Rosetta ™
Rosetta(DE3)
Rosetta 2
Rosetta 2(DE3)
Rosetta-gami 2
Rosetta-gami 2(DE3)
Rosetta-gami B
Rosetta-gami B(DE3)
RosettaBlue
RosettaBlue ™ (DE3)

レアコドン補充株の使用

プラスミドの安定化

インサート内の配列（繰り返し）の影響でプラスミドが不安定になる場合

BLR(DE3)
HMS174
HMS174(DE3)
NovaBlue
NovaBlue(DE3)

recA 欠失宿主の使用

目的タンパクのラベリング

B834
B834(DE3)

メチオニン栄養要求変異株宿主の使用

タンパク発現用の大腸菌宿主

製品名	包装単位	カタログ番号	主な特長
一般的なタンパク質発現			
▼ **BL21 シリーズ**			
BL21 Competent Cells	0.4 mL	69449-3	T7RNA ポリメラーゼ非含のコントロール用発現宿主
	1 mL	69449-4	
BL21(DE3) Competent Cells	0.4 mL	69450-3	BL21 Competent Cells（カタログ番号 69449-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	69450-4	
BL21(DE3) Singles Competent Cells	11 rxn	70235-3	BL21(DE3) Competent Cells（カタログ番号 69450-3/4）を 20 µL ずつ分注した使い切りパック
	22 rxn	70235-4	
BL21(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	69451-3	BL21(DE3) Competent Cells（カタログ番号 69450-3/4）に pLysS を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	69451-4	
BL21(DE3)pLysS Singles Competent Cells	11 rxn	70236-3	BL21(DE3)pLysS Competent Cells を 20 µL ずつ分注した使い切りパック
	22 rxn	70236-4	
タンパク質の不溶化 / 不活性の改善			
▼ **Origami™ 2 シリーズ**			
Origami 2 Competent Cells	0.4 mL	71344-3	宿主の還元酵素 trxB と gor 遺伝子に変異を持たせることで，S-S 結合を促進。T7RNA ポリメラーゼ非含
	1 mL	71344-4	
Origami 2(DE3) Competent Cells	0.4 mL	71345-3	Origami 2 Competent Cells（カタログ番号 71344-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	71345-4	
Origami 2(DE3) Singles Competent Cells	11 rxn	71408-3	Origami 2(DE3) Competent Cells（カタログ番号 71345-3/4）を 20 µL ずつ分注した使い切りパック
	22 rxn	71408-4	
Origami 2(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	71346-3	Origami 2(DE3) Competent Cells（カタログ番号 71345-3/4）に pLysS を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	71346-4	
▼ **Rosetta-gami™ 2 シリーズ**			
Rosetta-gami 2 Competent Cells	0.4 mL	71350-3	レアコドン対策の Rosetta シリーズと S-S 結合を促進させる Origami シリーズの長所を取り入れた宿主。T7RNA ポリメラーゼ非含。Rosetta-gami B との違いは本製品は K-12 株由来である点
	1 mL	71350-4	
Rosetta-gami 2(DE3) Competent Cells	0.4 mL	71351-3	Rosetta-gami 2 Competent Cells（カタログ番号 71350-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	71351-4	
Rosetta-gami 2(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	71352-3	Rosetta-gami 2(DE3) Competent Cells（カタログ番号 71351-3/4）に pLysS を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	71352-4	
Rosetta-gami 2(DE3)pLacI Competent Cells	0.4 mL	71353-3	Rosetta-gami 2(DE3) Competent Cells（カタログ番号 71351-3/4）に pLacI を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	71353-4	
▼ **Origami™ B シリーズ**			
Origami B Competent Cells	0.4 mL	70836-3	BL21 株の lacY 変異体で IPTG に鋭敏反応。宿主の還元酵素 trxB と gor 遺伝子に変異を持つため，細胞質中での S-S 結合を増強。T7RNA ポリメラーゼ非含
	1 mL	70836-4	
Origami B(DE3) Competent Cells	0.4 mL	70837-3	Origami B Competent Cells（カタログ番号 70836-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	70837-4	
Origami B(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	70839-3	Origami B(DE3) Competent Cells（カタログ番号 70837-3/4）に pLysS を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	70839-4	
Origami B(DE3)pLacI Competent Cells	0.4 mL	70838-3	Origami B(DE3) Competent Cells（カタログ番号 70837-3/4）に pLacI を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	70838-4	
▼ **Rosetta-gami™ B シリーズ**			
Rosetta-gami B Competent Cells	0.4 mL	71135-3	レアコドン対策の Rosetta シリーズと S-S 結合を促進させる Origami シリーズの長所を取り入れた宿主。T7RNA ポリメラーゼ非含。LacY を欠損させ IPTG 誘導性を鋭敏化。T7RNA ポリメラーゼ非含。Rosetta-gami 2 との違いは、本製品は BL21 株由来である点
	1 mL	71135-4	
Rosetta-gami B(DE3) Competent Cells	0.4 mL	71136-3	Rosetta-gami B Competent Cells（カタログ番号 71135-3）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	71136-4	
Rosetta-gami B(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	71137-3	Rosetta-gami B(DE3) Competent Cells（カタログ番号 71136-3）に pLysS を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	71137-4	
Rosetta-gami B(DE3)pLacI Competent Cells	0.4 mL	71138-3	Rosetta-gami B(DE3) Competent Cells（カタログ番号 71136-3）に pLacI を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
ストレス性タンパク質の発現			
▼ **Tuner™ シリーズ**			
Tuner Competent Cells	0.4 mL	70622-3	IPTG の濃度調節によって，発現量を調節することを可能にした BL21 株の変異株。T7RNA ポリメラーゼ非含
	1 mL	70622-4	
Tuner(DE3) Competent Cells	0.4 mL	70623-3	Tuner Competent Cells（カタログ番号 70622-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	70623-4	
Tuner(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	70624-3	Tuner(DE3) Competent Cells（カタログ番号 70623-3/4）に pLysS を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	70624-4	
Tuner(DE3)pLacI Competent Cells	0.4 mL	70625-3	Tuner(DE3) Competent Cells（カタログ番号 70624-3/4）に pLacI を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	70625-4	
▼ **NovaBlue シリーズ**			
NovaBlue Competent Cells	0.4 mL	69825-3	K-12 株由来で recA-, endA-。T7RNA ポリメラーゼ非含
	1 mL	69825-4	
NovaBlue(DE3) Competent Cells	0.4 mL	69284-3	NovaBlue Competent Cells（カタログ番号 69825-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	69284-4	

• 各大腸菌の遺伝子型は 9 ページをご覧ください

タンパク発現用の大腸菌宿主

製品名	包装単位	カタログ番号	主な特長
レアコドン対策に			
▼ **Rosetta™ シリーズ**			
Rosetta Competent Cells	0.4 mL	70953-3	6 つのレアコドン tRNA を供給。T7RNA ポリメラーゼ非含
	1 mL	70953-4	
Rosetta(DE3) Competent Cells	0.4 mL	70954-3	Rosetta Competent Cells（カタログ番号 70953-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	70954-4	
Rosetta(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	70956-3	Rosetta(DE3) Competent Cells（カタログ番号 70954-3/4）に pLysS を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	70956-4	
Rosetta(DE3)pLacI Competent Cells	0.4 mL	70920-3	Rosetta(DE3) Competent Cells（カタログ番号 70954-3/4）に pLacI を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	70920-4	
▼ **Rosetta™ 2 シリーズ**			
Rosetta 2 Competent Cells	0.4 mL	71402-3	Rosetta Competent Cells（カタログ番号 70953-3/4）にレア対応コドン tRNA を 1 つを加えてレア tRNA のカバレッジを改善。T7RNA ポリメラーゼ非含
	1 mL	71402-4	
Rosetta 2(DE3) Competent Cells	0.4 mL	71397-3	Rosetta 2 Competent Cells（カタログ番号 71402-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	71397-4	
Rosetta 2(DE3) Singles Competent Cells	11 rxn	71400-3	Rosetta 2(DE3) Competent Cells（カタログ番号 71397-3/4）を 20 µL ずつ分注した使い切りパック
	22 rxn	71400-4	
Rosetta 2(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	71403-3	Rosetta 2(DE3) Competent Cells（カタログ番 71397-3/4）に pLys を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	71403-4	
Rosetta 2(DE3)pLysS Singles Competent Cells	11 rxn	71401-3	Rosetta 2(DE3)pLysS Competent Cells（カタログ番号 71403-3/4）を 20 µL ずつ分注した使い切りパック
	22 rxn	71401-4	
Rosetta 2(DE3)pLacI Competent Cells	0.4 mL	71404-3	Rosetta 2 Competent Cells（カタログ番号 71397-3/4）に pLacI を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	71404-4	
▼ **Rosetta-gami™ 2 シリーズ**			
Rosetta-gami 2 Competent Cells	0.4 mL	71350-3	レアコドン対策の Rosetta シリーズと S-S 結合を促進させる Origami シリーズの長所を取り入れた宿主。T7RNA ポリメラーゼ非含。Rosetta-gami B との違いは本製品は K-12 株由来である点
	1 mL	71350-4	
Rosetta-gami 2(DE3) Competent Cells *	0.4 mL	71351-3	Rosetta-gami 2 Competent Cells（カタログ番号 71350-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	71351-4	
Rosetta-gami 2(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	71352-3	Rosetta-gami 2(DE3) Competent Cells（カタログ番号 71351-3/4）に pLys を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	71352-4	
Rosetta-gami 2(DE3)pLacI Competent Cells	0.4 mL	71353-3	Rosetta-gami 2(DE3) Competent Cells（カタログ番号 71351-3/4）に pLacI を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	71353-4	
▼ **Rosetta-gami™ B シリーズ**			
Rosetta-gami B Competent Cells	0.4 mL	71135-3	レアコドン対策の Rosetta シリーズと S-S 結合を促進させる Origami シリーズの長所を取り入れた宿主。T7RNA ポリメラーゼ非含。LacY を欠損させ IPTG 誘導性を鋭敏化。T7RNA ポリメラーゼ非含。Rosetta-gami 2 との違いは、本製品は B 株由来である点
	1 mL	71135-4	
Rosetta-gami B(DE3) Competent Cells	0.4 mL	71136-3	Rosetta-gami B Competent Cells（カタログ番号 71135-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	71136-4	
Rosetta-gami B(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	71137-3	Rosetta-gami B(DE3) Competent Cells（カタログ番号 71136-3/4）に pLys を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	71137-4	
Rosetta-gami B(DE3)pLacI Competent Cells	0.4 mL	71138-3	Rosetta-gami B(DE3) Competent Cells（カタログ番号 71136-3/4）に pLacI を導入し、厳密な発現制御を目指した製品
	1 mL	71138-4	
▼ **RosettaBlue™ シリーズ**			
RosettaBlue Competent Cells	0.4 mL	71058-3	6 つのレアコドン tRNA を供給。Rosetta-gami B（カタログ番号 71135-3/4）との違いは本製品は recA-, endA- であること。また、trxB+ ,gor + であるため S-S 結合促進の効果が Rosetta-gami B よりも小さいこと。T7RNA ポリメラーゼ非含
	1 mL	71058-4	
RosettaBlue(DE3) Competent Cells	0.4 mL	71059-3	RosettaBlue Competent Cells（カタログ番号 71058-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	71059-4	
RosettaBlue(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	71034-3	RosettaBlue(DE3) Competent Cells（カタログ番号 71059-3/4）に pLysS を導入
	1 mL	71034-4	
プラスミドの安定化			
▼ **BLR(DE3) シリーズ**			
BLR(DE3) Competent Cells	0.4 mL	69053-3	Rec- でプラスミド排除を低減。T7 プロモーター非含。B 株由来
	1 mL	69053-4	
BLR(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	69956-3	BLR(DE3) Competent Cells（カタログ番号 69053-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	69956-4	
▼ **HMS174 シリーズ**			
HMS174 Competent Cells	0.4 mL	69452-3	Rec- でプラスミド排除を低減させた K-12 株。T7 プロモーター非含。K-12 株由来
	1 mL	69452-4	
HMS174(DE3) Competent Cells	0.4 mL	69453-3	HMS174 Competent Cells（カタログ番号 69452-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	69453-4	
HMS174(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	69454-3	BLR(DE3) Competent Cells（カタログ番号 69453-3/4）に pLysS を導入
	1 mL	69454-4	
▼ **NovaBlue シリーズ**			
NovaBlue Competent Cells	0.4 mL	69825-3	recA-, endA-。T7RNA ポリメラーゼ非含。B 株由来
	1 mL	69825-4	
NovaBlue(DE3) Competent Cells	0.4 mL	69284-3	NovaBlue Competent Cells（カタログ番号 69825-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	69284-4	
目的タンパク質のラベリング			
▼ **B834(DE3) シリーズ**			
B834(DE3) Competent Cells	0.4 mL	69041-3	メチオニン要求性。T7 プロモーター非含。BL21 株由来
	1 mL	69041-4	
B834(DE3)pLysS Competent Cells	0.4 mL	69042-3	B834(DE3) Competent Cells（カタログ番号 69041-3/4）に T7RNA ポリメラーゼを導入
	1 mL	69042-4	

• 各大腸菌の遺伝子型は 9 ページをご覧ください

タンパク質発現用の大腸菌遺伝子型

Strain	Strain background	Expression plasmid: pET [1]	Expression plasmid: pCDF [1]	Expression plasmid: pRSF [1] & pCOLADuet[1]	Expression plasmid: pACYCDuet [1]	Expression plasmid: pETBlue[1] & pTriEx[1]	Expression plasmid: non-T7 [3]	*recA* [4]	*endA* [5]	Blue/white screening [6]	*lacI*^{q} [7]	F' episome [8]	*ompT* [9]	*lon* [10]	*trxB* [11]	*gor* [12]	*lacY* [13]	Rare codon tRNAs [14]	pLysS [15]	pLacI [16]	*met* [17]	*dcm* [18]	Available as Singles	Available as HT96	Chloramphenicol resistance	Kanamycin resistance	Tetracycline resistance	Rifampicin resistance	Overnight Express [19]	Chemically Competent
B834(DE3)	B	●	●	●	●								●	●							●	●							●	●
B834(DE3)pLysS	B	●	●	●									●	●					●		●	●			●				●	●
BL21[1]	B						●						●	●								●							●	●
BL21(DE3)	B	●	●	●	●								●	●								●	●	●					●	●
BL21(DE3)pLysS	B	●	●	●									●	●					●			●	●		●				●	●
BLR[1]	B						●	●					●	●								●					●		●	●
BLR(DE3)	B	●	●	●	●			●					●	●								●					●		●	●
BLR(DE3)pLysS	B	●	●	●				●					●	●					●			●			●		●		●	●
HMS174[1]	K-12						●	●																				●	●	●
HMS174(DE3)	K-12	●	●	●	●			●																				●	●	●
HMS174(DE3)pLysS	K-12	●	●	●				●											●						●			●	●	●
NovaBlue[1]	K-12						●	●	●	●	●	●											●	●			●			●
NovaBlue(DE3)	K-12	●	●	●	●			●	●		●	●															●			●
Origami 2[1]	K-12						●				●	●			●	●											●			●
Origami 2(DE3)	K-12	●	●	●	●						●	●			●	●							●				●			●
Origami 2(DE3)pLysS	K-12	●	●	●							●	●			●	●			●				●		●		●			●
Origami B[1]	B						●						●	●	●	●	●					●				●	●			●
Origami B(DE3)	B	●[2]	●		●								●	●	●	●	●					●				●	●			●
Origami B(DE3)pLysS	B	●[2]	●										●	●	●	●	●		●			●			●	●	●			●
Origami B(DE3)pLacI	B					●							●	●	●	●	●			●		●			●	●	●			●
Rosetta[1]	B						●						●	●				●				●			●				●	●
Rosetta(DE3)	B	●	●	●									●	●				●				●			●				●	●
Rosetta(DE3)pLysS	B	●	●	●									●	●				●	●			●			●				●	●
Rosetta(DE3)pLacI	B					●							●	●				●		●		●			●				●	●
Rosetta 2[1]	B						●						●	●				●				●			●				●	●
Rosetta 2(DE3)	B	●	●	●									●	●				●				●	●		●				●	●
Rosetta 2(DE3)pLysS	B	●	●	●									●	●				●	●			●	●		●				●	●
Rosetta 2(DE3)pLacI	B					●							●	●				●		●		●			●				●	●
RosettaBlue[1]	K-12						●	●	●	●	●	●					●	●							●		●			●
RosettaBlue(DE3)	K-12	●	●	●				●	●		●	●					●	●							●		●			●
RosettaBlue(DE3)pLysS	K-12	●	●	●				●	●		●	●					●	●	●						●		●			●
Rosetta-gami 2[1]	K-12						●				●	●			●	●		●							●		●			●
Rosetta-gami 2(DE3)	K-12	●	●	●							●	●			●	●		●							●		●			●
Rosetta-gami 2(DE3) pLysS	K-12	●	●	●							●	●			●	●		●	●						●		●			●
Rosetta-gami 2(DE3) pLacI	K-12					●					●	●			●	●		●		●					●		●			●
Rosetta-gami B[1]	B						●						●	●	●	●	●	●				●			●	●	●			●
Rosetta-gami B(DE3)	B	●[2]	●										●	●	●	●	●	●				●			●	●	●			●
Rosetta-gami B(DE3) pLysS	B	●[2]	●										●	●	●	●	●	●	●			●			●	●	●			●
Rosetta-gami B(DE3) pLacI	B					●							●	●	●	●	●	●		●		●			●	●	●			●
Tuner[1]	B						●						●	●			●					●								●
Tuner(DE3)	B	●	●	●	●								●	●			●					●								●
Tuner(DE3)pLysS	B	●	●	●									●	●			●		●			●			●					●
Tuner(DE3)pLacI	B					●							●	●			●			●		●			●					●

1. これらのプラスミドは T7 プロモーターによってタンパク質発現がコントロールされているので T7RNA ポリメラーゼを持つホスト株が必要です。また、λ DE3 溶原菌を持たないホスト株にバクテリオファージλ CE6 を感染させることで T7 ポリメラーゼ遺伝子を導入するキットも用意されており、それを利用したタンパク質発現が可能です。
2. アンピシリン耐性を持つプラスミドと一緒に使えます。しかし、カナマイシン耐性を持つプラスミドとの併用は不可です。
3. *E.coli* プロモーター（*tac, trc, trc/tlo,* T5 など）を持つベクターや、λ CE6 を感染させて T7 プロモーターを持たせたベクターでの発現に適します。ホスト株と同じ抗生物質に対する耐性を持つベクターは使用不可です。
4. 相同組み換えが起こりません。タンデムリピート配列を持つプラスミドの安定化やプラスミドの多量体形成の防止に有用です。
5. エンドヌクレアーゼを欠損しています。調製プラスミドの質が向上します。
6. *lacZ Δ M15* 遺伝子のコードするωフラグメントがベクターにコードされるαフラグメントを補完して、β - ガラクトシダーゼ活性を生じます。
7. *lacIq* 遺伝子が *lac* リプレッサーの過剰発現を促します。これにより、*lac* オペレーター配列を持つプロモーターを抑制し、基底発現を抑えます。
8. single strand のプラスミド DNA の作成には F'エピソームをもつホストで増殖させる必要があります。
9. 目的たんぱく質の精製中に組み替えタンパク質を切断する *ompT* 膜プロテアーゼを欠損しています。
10. 細胞質由来の *Lon* プロテアーゼを欠損しています。
11. Thioredoxin reductase を欠損しているので、細胞質内でのジスルフィド結合を促します。
12. Glutathione reductase を欠損しているので、trxB mutation が発生すると細胞質内でのジスルフィド結合を強く促します。
13. *lac* permease を欠損しているので、IPTG による発現誘導を濃度依存的にコントロールできます。
14. コドンバイアスの解消のために、レアコドン t RNA を補充しています。
15. T7 lysozyme を提供することで目的たんぱく質の基底発現を抑制します。これにより、毒性のあるたんぱく質の発現に適します。pLysE を持つホスト株はさらに強い抑制が可能です。
16. *lac* リプレッサーを過剰発現します。これにより、*lac* オペレーターのコントロール下にある目的遺伝子の基底転写を抑制します。pETBlue や pTriEx との併用に適します。
17. メチオニン要求株はメチオニンをラベリングする目的に適しています。
18. CCAGG および CCTGG 配列のシトシン残基（C5 位）がメチル化されません。
19. Overnight Express AutoinductionSystems 使用可能。細胞濃度のチェックや IPTG の添加を行わずに簡単に発現誘導を行うことができます。

タグ切断プロテアーゼ

高性能 **高純度**

融合タンパク質を特異的に切断します

Thrombin, Restriction Grade（トロンビン）
Biotinylated Thrombin（ビオチン化トロンビン）

他のプロテアーゼの混入はありません。ビオチン化トロンビンには、ビオチンが付加されており、反応後、ストレプトアビジンアガロースに吸着させて反応液から除くことができます。Thrombin Cleavage Capture Kit（カタログ番号 69022-3）は Biotinylated Thrombin とストレプトアビジンアガロースのセット製品です。

Recombinant Enterokinase（エンテロキナーゼ）

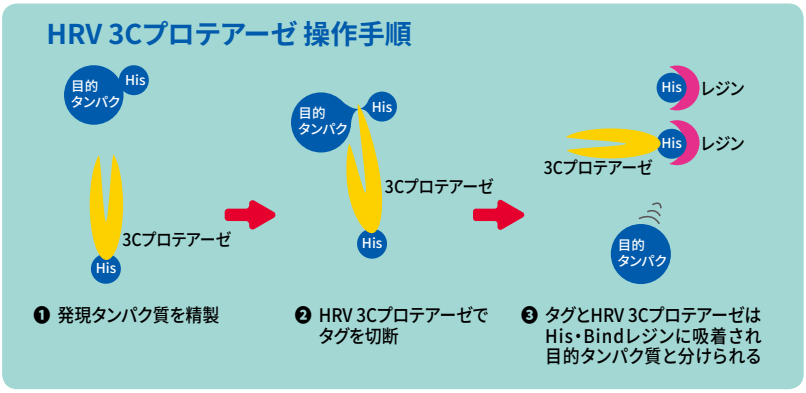
ウシのエンテロキナーゼ触媒サブユニットの高純度リコンビナントです。天然の酵素より高い特異性を示します。Enterokinase Cleavage Capture Kit（カタログ番号 69067-3）にはアガロースビーズがセットになっています。反応後にエンテロキナーゼをビーズに結合させて溶液から除くことができます。

Factor Xa

ウシ血漿由来の高純度精製品です。活性化済みで、他のプロテアーゼの混入はありません。 エンテロキナーゼと同様、認識配列（IleGluGlyArg ↓）の C 末端側を切断するので、ベクターコンストラクトからベクター由来の配列をすべて取り除くことができます。Factor Xa Cleavage Capture Kit（カタログ番号 69037-3）にはアガロースビーズがセットになっています。反応後に Factor Xa をビーズに結合させて溶液から除くことができます。

HRV 3C protease

4°C～ 37°Cで活性を持つので、タンパク質の構造が安定した状態で使用できます。His･Tag 配列をもっており、反応後 His･Bind レジンに吸着させて除去できます（図）。22 kDa の小さいプロテアーゼです。溶液中やカラム上、透析中での酵素反応が可能です。



タンパク質の精製から濃縮までこれひとつで完結！
Amicon® Pro タンパク精製システム

特長

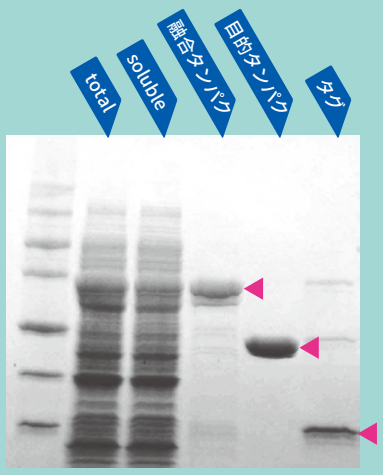
- 簡単操作
- 時間短縮
- タンパク質サンプルのロスを防止
- レジンの選択により様々なタンパク質の精製・濃縮が可能

融合タグ除去用プロテアーゼ取扱一覧

酵素名	切断サイト	サイズ	特異性	アフィニティーレジンによる除去	由来 (Origin)	至適Buffer (1X) *	至適反応条件 **
Thrombin, Restriction Grade *** (69671-3)	LeuValProArg↓GlySer	33 kDa (B chain) (A chain, 6 kDa)	Moderately High		Human plasma that tests negative for HBsAg and HIV antibodies (human)	150 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl, 2.5 mM $CaCl_2$, pH 8.4	Room temperature (20-23˚C) 16 hr
●反応条件:1 mg切断コントロールタンパク質に対して、1Unit トロンビン ●反応液:1×トロンビン Cleavage Buffer ●反応時間:16時間/20°C							
Biotinylated * Thrombin** (69672-3)	LeuValProArg↓GlySer	35 kDa (B chain) (A chain, 6 kDa)	Moderately High	Biotin / Streptavidin Agarose >99% efficiency			
●反応条件:1 mg切断コントロールタンパク質に対して、1Unit ビオチン化トロンビン ●反応液:1×rEK Cleavage/Capture Buffer ●反応時間:16時間/20°C							
Recombinant Enterokinase (rEK) (69066-3)	AspAspAspAspLys↓	26 kDa (calculated), 33 kDa (apparent)	High	EKapture™ Agarose >99% efficiency	*E. coli* expression host strain (bovine)	50 mM NaCl, 20 mM Tris-HCl, 2 mM $CaCl_2$, pH 7.4	
●反応条件:50 µg切断コントロールタンパク質に対して、1Unit rEK ●反応液:1×rEK Cleavage/Capture Buffer ●反応時間:16時間/室温							
Factor Xa *** (69036-3)	IleGluGlyArg↓	2 subunits 34, 29 kDa	Moderate	Xarrest™ Agarose >95% efficiency	Bovine plasma (bovine)	100 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, 5 mM $CaCl_2$, pH 8.0	
●反応条件:50 µg切断コントロールタンパク質に対して、1Unit FactorXa ●反応液:1×Factor Xa Cleavage/Capture Buffer ●反応時間:16時間/室温							
HRV 3C Protease (71493-3)	LeuGluValLeuPheGln↓GlyPro	22 kDa	Very High	His•Tag™ /Ni-NTA His•Bind™ Resin >95% efficiency	*E. coli* expression host strain (human rhinovirus)	150 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, pH 7.5	4˚C 16 h
●反応条件:100 µgHRV 3C切断コントロールタンパク質に対して、1Unit HRV 3C ●反応液:1×HRV 3Cプロテアーゼ Cleavage/Capture Buffer ●反応時間: 16時間/4°C							

* 10X Cleavage or Cleavage/Capture Buffers included with all protease kit
**In general, for all proteases, cleavage reaction temperature range is 4–37˚C and incubation time range is 2–16 h.
*** For a review comparing thrombin and Factor Xa cleavage reaction methods, see: Jenny, R.J, Mann, K.G., and Lundblad, R. L. 2003. *Prot. Exp. Purif.* **31**, 1–11.

カラム上でも分解できます



HRV 3C protease で pET-47b:GST-enolase を精製したときの SDS-PAGE

製品名	包装単位	カタログ番号
Thrombin, Restriction Grade	50 unit	69671-3
Biotinylated Thrombin	50 unit	69672-3
Thrombin Cleavage Capture Kit	1 kit	69022-3
Recombinant Enterokinase	50 unit	69066-3
Enterokinase Cleavage Capture Kit	1 kit	69067-3
Factor Xa, Restriction Grade, Bovine Plasma	400 unit	69036-3
Factor Xa Cleavage Capture Kit	1 kit	69037-3
HRV 3C Protease	500 unit	71493-3

プロテアーゼ活性に影響を与える界面活性剤、変性剤、還元剤などの情報もございます。
お気軽にお問い合せください。

昆虫細胞での発現

InsectDirect™ システム
BacMagic™ システム

昆虫細胞でタンパク質発現する際の組換えバキュロウィルス作製は、時間も手間もかかるため導入を躊躇してしまいがちです。弊社では、動物細胞のトランスフェクションと同様に、プラスミドを介した一過性発現を可能にする InsectDirect システムをご用意いたしました。このシステムではウィルス作製の必要がないため、時間が大幅に短縮され、ハイスループットの発現スクリーニングに最適です。さらに、BacMagic システム をご利用いただくと、プラーク精製ステップを省略できるため、これまで 20 日かかっていたウィルス産生が 10 日で可能になります。各システムは、必須試薬やキットを選択して構築します。

昆虫細胞を用いたタンパク質発現をこれから始める方へ

プラスミドを用いた一過性発現には

48 時間で実験できる一過性発現システム

InsectDirect システム

14 ページ参照

必須試薬を選択して一過性発現システムを構築します。選択可能な試薬は本ページの下表および 13、17 ページをご覧ください。

選択例

必須試薬	製品名	カタログ番号
細胞	Sf9 Insect Cells	71104-3
無血清培地	BacVector Insect Cell Medium	70590-3
遺伝子導入試薬	Insect GeneJuice	71259-3
トランスファーベクター	pIEx-3 DNA	71245-3

プロトコール

1 日目	構築した pIEx あるいは pIEx/Bac ベクターを昆虫細胞（Sf9 等）へトランスフェクトする。
2 日目	細胞を回収し、精製を開始する。

48 hours

バキュロウィルスの作製には

10 日間でバキュロウィルスができるシステム

BacMagic システム

15 ページ参照

BacMagic DNA Kit（カタログ番号 71545-3）と、必須試薬を組み合わせて発現システムを構築します。組み合わせ可能な試薬は本ページの下表および 13、17 ページをご覧ください。

選択例

必須試薬	製品名	カタログ番号
キット	BacMagic DNA Kit BacMagic DNA（ウィルス DNA）とトランスフェクション（TF）試薬、TF コントロールプラスミドのセット	71545-3
トランスファーベクター	pBAC-5 DNA	70222-3
プラークアッセイアガロース	BacPlaque Agarose	70034-3
細胞	Sf9 Insect Cells	71104-3

プロトコール

1 日目	構築したトランスファープラスミドと BacMagicDNA（環状）を昆虫細胞へトランスフェクトする。
5 日目	培地中のウィルスを回収し、MOI を上げ、感染させ増幅する。
10 日目	発現タンパク質の回収またはスケールアップ感染。

10 days

InsectDirect システムまたは BacMagic システムで使用可能な試薬の組み合わせ

キット		InsectDirect システム	BacMagic システム	カタログ番号	ページ
細胞	SF9 Insect Cells	●	●	71104-3	17
	TriEx Sf9 Cells	●	●	71023-3	17
無血清培地	BacVector Insect Cell Medium	●	●	70590-3	17
	TriEx Insect Cell Medium	●	●	71022-3	17
遺伝子導入試薬	Insect GeneJuice	●	●	選択	17
ベクター (transfer vector)	pIEx シリーズ	●	×	選択	13
	pBiEX シリーズ	●	×	選択	13
	pIEx/Bac シリーズ	●	●	選択	13
	pBAC シリーズ	×	●	選択	13
	pTriEx シリーズ	×	●	選択	13
プラークアッセイ用アガロース	BacPlaque Agarose	−	●	70034-3	17

● 使用可能　× 使用不可　− 不要

Insect Cell Expression Vector セレクションガイド

ベクター名	ベクターサイズ	カタログ番号	Enhancer/ Promoter（s）	Signal Seq.	Fusion Tags		Protease Cleavage sites	大腸菌発現	システム		動物細胞発現
					N-terminal	C- terminal			InsectDirect（一過性発現）	BacMagic（バキュロウィルス発現）	
pIEx 昆虫細胞での一過性タンパク質発現用ベクター											
pIEx ™ -1	3897	71241-3	hr5/ie1		His•Tag ™ /S•Tag ™	HSV•Tag	Tb/Ek		●		
pIEx-2	4563	71238-3	hr5/ie1		GST•Tag ™ /His•Tag/S•Tag	HSV•Tag	Tb/Ek		●		
pIEx-2 Ek/LIC	4561	71240-3	hr5/ie1		GST•Tag/His•Tag/S•Tag	HSV•Tag	Tb/Ek		●		
pIEx-3 Ek/LIC	4627	71245-3	hr5/ie1	●	GST•Tag/His•Tag/S•Tag	HSV•Tag	Tb/Ek		●		
pIEx-4	3780	71235-3	hr5/ie1			S•Tag/His•Tag			●		
pIEx-5	3843	71242-3	hr5/ie1	●		S•Tag/His•Tag			●		
pIEx-6	3783	71333-3	hr5/ie1		His•Tag	S•Tag	Ek		●		
pIEx-7 Ek/LIC	3723	71339-3	hr5/ie1		His•Tag	S•Tag	Ek		●		
pIEx-8 Ek/LIC	3738	71572-3	hr5/ie1		Strep•Tag ™ II	His•Tag	Ek		●		
pIEx-10	3801	71557-3	hr5/ie1	●	Strep•Tag ™ II	His•Tag	Ek		●		
pIEx-10 Ek/LIC	3801	71574-3	hr5/ie1	●	Strep•Tag ™ II	His•Tag	Ek		●		
pBiEx 昆虫細胞での一過性タンパク質発現用ベクターと、大腸菌での発現の 2 通りに使用可能なベクター											
pBiEx ™ -1	5475	71234-3	hr5/ie1,T7*lac*		His•Tag/S•Tag	HSV•Tag	Tb/Ek	●	●		
pIEx/Bac 昆虫細胞での一過性タンパク質発現およびウィルス産生で使用可能なベクター											
pIEx/Bac ™ -1	6796	71724-3	hr5/ie1,p10		Strep•Tag II	His•Tag	Ek		●	●	
pIEx/Bac-3	6802	71726-3	hr5/ie1,p10		His•Tag	Strep•Tag ™ II	3C/Tb		●	●	
pIEx/Bac-4	7496	71727-3	hr5/ie1,p10		GST・TAG	His・Tag	Ek		●	●	
pBAC 昆虫細胞でのバキュロウィルス産生用ベクター											
pBAC ™ -1	5259	70003-3	polh			His•Tag				●	
pBAC-3	5474	70088-3	polh	●	His•Tag/S•Tag	His•Tag	Tb/Ek			●	
pBAC-5	5917	70222-3	gp64		His•Tag/S•Tag	His•Tag	Tb/Ek			●	
pBAC-6	5517	70224-3	gp64	●	His•Tag/S•Tag	His•Tag	Tb/Ek			●	
pBAC4x-1	5580	70045-3	polh, p10							●	
pBACsurf-1	9429	70055-3	polh	●		gp64				●	
pTriEx 大腸菌発現、バキュロウィルス発現、動物細胞発現のすべてが行えるマルチベクター											
pTriEx ™ -1.1	5301	70840-3	T7*lac*, p10, β-actin			HSV•Tag/ His•Tag		●		●	●
pTriEx-3	5082	70823-3	T7*lac*, p10, CMV			HSV•Tag/ His•Tag		●		●	●
pTriEx-4	5238	70824-3	T7*lac*, p10, CMV		His•Tag/S•Tag	HSV•Tag/ His•Tag	Tb/Ek	●		●	●
pTriEx-4 Ek/LIC	5238	70905-3	T7*lac*, p10, CMV		His•Tag/S•Tag	HSV•Tag/ His•Tag	Tb/Ek	●		●	●
pTriEx-5	5061	71558-3	T7*lac*, p10, CMV		Strep•Tag II	His•Tag	Ek	●		●	●
pTriEx-5 Ek/LIC	5061	71575-3	T7*lac*, p10, CMV		Strep•Tag II	His•Tag	Ek	●		●	●
pTriEx-6	5070	71559-3	T7*lac*, p10, CMV		Strep•Tag II	His•Tag	3C/Tb	●		●	●
pTriEx-6 3C/LIC	5070	71577-3	T7*lac*, p10, CMV		Strep•Tag II	His•Tag	3C/Tb	●		●	●
pTriEx-7 Ek/LIC	5124	71576-3	T7*lac*, p10, CMV		Strep•Tag II	His•Tag	Ek	●		●	●
pTriEx-3 Neo DNA	6445	70931-3	T7lac, p10, CMV			HSV•Tag/ His•Tag		●		●	●
pTriEx-4 Neo DNA	6601	70933-3	T7lac, p10, CMV		His•Tag/S•Tag	HSV•Tag/ His•Tag	Tb/Ek	●		●	●

プラスミドを利用した一過性発現システム
InsectDirect™ システム

InsectDirect システムでは、動物細胞のトランスフェクションと同様に、昆虫細胞でもプラスミドを介した一過性発現を可能にしました。最適なプロモーター / エンハンサーを含むプラスミドを用いて昆虫細胞に目的タンパク質を発現させます。目的タンパク質を迅速かつ高い収量で得ることができるため、ハイスループット用途に最適です。また、昆虫細胞系には目的タンパク質に糖鎖などの翻訳後修飾が付加されるので、可溶性が向上し活性が上昇するといった利点があります。

特長

- pIEx/Bac、pIEx および pBiEx ベクターは、一過性発現に最適な hr5/ie1 エンハンサー / プロモーターを使用
- Insect GeneJuice トランスフェクション試薬は高効率で低毒性
- NucBuster ™ Protein Extraction Kit（カタログ番号 7118-3）により、遠心操作を行わず全細胞を培養液中で溶解しタンパク質を抽出

InsectDirectシステム

1 日目	▼	構築した pIEx あるいは pIEx/Bac ベクターを昆虫細胞（Sf9 等）へトランスフェクトする。
2 日目	▼	細胞を回収し、精製を開始する。

48 hours

InsectDirect システムに必要な製品は 12 ～ 13 ページと 17 ページをご覧ください。

FAQ

InsectDirect システム中で試用済みの細胞株は？

Sf9, Sf21, S2 および High Five™の各細胞がいずれも InsectDirect システムで使用実績があります。継代回数は、Sf9 および Sf21 細胞の 5-20 回時が最適です。

InsectDirect システムとともに使用可能な培地は？

BacVector Insect Cell Medium（カタログ番号 70590-3　17 ページ）を推奨しますが、以下の培地も InsectDirect システムでの実績があります。

- TriEx™ Insect Cell Medium（カタログ番号 71022-3　17 ページ）
- Gibco® Sf-900 II SFM
- ESF 921
- EX-CELL 420 Insect Serum-Free Media
- Grace's Insect Medium
- Hink's TNM-FH Insect Medium
- HyQ SFX-Insect™

InsectDirect システムの使用時に組換え体ウィルスを作製する必要は？

ありません。InsectDirect システムシステムはウィルスを作製せずにタンパク質を発現させる方法です。目的遺伝子を組み込んだ pIEx/Bac, pIEx, または pBiEx を Insect GeneJuice トランスフェクション試薬（カタログ番号 71259-3　17 ページ）を用いて細胞にトランスフェクションします。一般にトランスフェクションの 48-72 時間後にタンパク質の発現量は最大となります。

InsectDirect システムを用いて発現に成功したタンパク質は？

40 種類以上のタンパク質発現の実績があります。その中には細胞質プロテインキナーゼやキナーゼ活性をもつ受容体の領域、キナーゼ相互作用タンパク質、ホスホリパーゼ、核輸送タンパク質、ホスファターゼ、ヒートショックタンパク質などがあります。100 mL の培養から 8 mg という高収量が得られた例があります。

より短い時間で作製可能なバキュロウィルス発現システム
BacMagic™ システム

BacMagic システムは、バキュロウィルス組換え体を作製するためのシステムです。従来的な組換えバキュロウィルスの作製方法を改良し、プラーク精製処理時間を省略できるように改変しました。昆虫細胞で組換えタンパク質を大量発現させるのに最適なバキュロウィルスが、従来より短時間で効率よく作製できます。
BacMagic DNA はオープンリーディングフレーム（ORF）1629（必須遺伝子）の一部を欠損させ、ポリヘドリン（polh）コード領域の代わりに細菌人工染色体（BAC）配列をもたせた AcNPV ゲノムです。そのため、非組換えウィルスは昆虫細胞中で複製されず、遺伝子が導入されたウィルス DNA のみ細菌細胞中で環状 DNA として増幅されます。
まず、標的コード配列を pBAC や pTriEx ベクターなどの対応トランスファープラスミド中に組み込み、そのコンストラクトと BacMagic DNA を昆虫細胞へコトランスフェクトします。すると、細胞内における相同遺伝子組換えによってウィルス ORF1629 の機能が回復すると同時に、BAC 配列が標的コード配列に置き換わります。結果として、組換えバキュロウィルスのみが複製可能となり、均質な組換え体の集団が生成されます。

特長

- キチナーゼの欠失によってタンパク質の分泌と膜移行を促進
- 組換えウィルスのプラーク精製が不要
- pBAC、pTriEx, pIEx/Bac など lef/603 と ORF1629 を持つトランスファープラスミドに適合

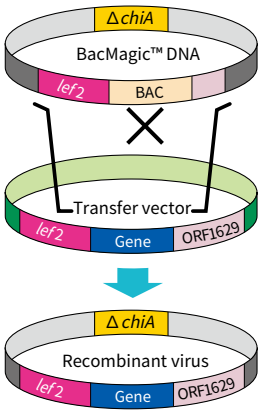
BacMagic システム

1 日目	▼	構築したトランスファープラスミドと BacMagicDNA（環状）を昆虫細胞へトランスフェクトする。
5 日目	▼	培地中のウィルスを回収し、MOI を上げ感染させ増幅する。
10 日目	▼	発現タンパク質の回収またはスケールアップ感染。

10 days

BacMagic システムに必要な製品は 12 ～ 13 ページと 16 ページをご覧ください。

BacMagic™ homologous recombination scheme



製品名	包装単位	カタログ番号
BacMagic DNA Kit	5 rxn	71545-3

構成品

カタログ番号：71545-3	包装単位
BacMagic DNA	0.5 µg
Insect GeneJuice Transfection Reagent	50 µL
Transfection Control Plasmid	2 µg

FAQ

プラスミドによる発現と、pIEx/Bac ベクターを使用したバキュロウィルスによる発現とでタンパク質収量を比較するとどうなりますか？

一概には言えません。プラスミドを用いた InsectDirect システムとバキュロウィルスを用いた BacMagic/BacVector システムのいずれかのシステムから得られた精製タンパク質量もほぼ同量であることもあれば、バキュロウィルス系に変更すると収量が増大することもあります。

昆虫細胞でのバキュロウィルス産生用ベクター
pBAC™ Baculovirus Transfer ベクター

pBAC シリーズ（バキュロウィルストランスファープラスミド）はバキュロウィルス産生用プラスミドです。バキュロウィルスゲノム DNA を用いたコトランスフェクション（BacMagic DNA（15 ページ）の標的遺伝子クローニング、およびその後の lef2/60 および ORF1629 部位における組換えと昆虫細胞における発現にご使用いただけます。

特長

- BacMagic に対応
- 組換えには lef2/603 と ORF1629 部位を利用

製品名	包装単位	カタログ番号
pBAC-1 DNA	10 µg	70003-3
pBACsurf-1 DNA	10 µg	70055-3
pBAC-3 DNA	10 µg	70088-3
pBAC4x-1 DNA	10 µg	70045-3
pBAC-5 DNA	10 µg	70222-3
pBAC-6 DNA	10 µg	70224-3

polh プロモーター制御の高レベル発現

pBAC-1、-3 の各トランスファープラスミドは、polh プロモーターの制御下で感染の最晩期に大量のタンパク質を発現するように設計されています。 pBAC-3 は、分泌タンパク質の発現用に設計されています。これらは S・Tag および His・Tag に加え、21 アミノ酸の gp64 シグナル配列を含んでおり、感染昆虫細胞中で大量のタンパク質を分泌経路へと導きます。

1 つの組換えウィルスで複数の遺伝子を発現

pBAC-4x ベクターは、」2 コピーの polh プロモーターと 2 コピーの p10 プロモーターをコードしています。pBAC4x ベクターは、感染の最晩期に同一の細胞内で最大 4 種類の発現を同時に行えるように設計されています。これらのベクターは、マルチサブユニットタンパク質、多タンパク質複合体の発現や、単一遺伝子を複数のコピーから発現させる場合、タンパク質間相互作用の研究などに非常に有用です（Weyer 1991, Belyaev 1993, Belyaev 1995）。

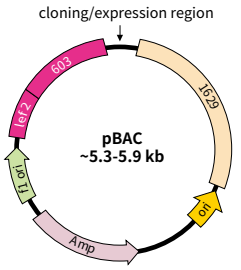
糖タンパク質、分泌タンパク質、高度に修飾されたタンパク質の初期発現

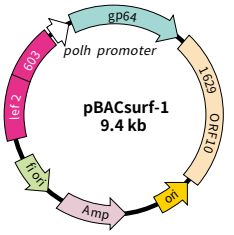
pBAC-5 と pBAC-6 では、最初期プロモーターと後期プロモーターの両方を含む修正 gp64 タンデムプロモーターを使用し、感染後期にも発現が継続されるようになっています。これらのバキュロウィルス発現ベクターは、ウィルスが引き起こす細胞変性効果がタンパク質の修飾経路、特にグリコシル化と分泌に関係する機能に損失を与える前に、目的遺伝子を発現することを可能とします（Javis 1996）。

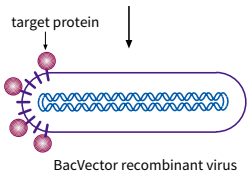
目的タンパク質のバキュロウィルス表面呈示

pBACsurf-1 は、polh プロモーター制御下に目的遺伝子を gp64 シグナル配列と成熟タンパク質コード配列の間に正しい読み枠で挿入するように設計されています。目的タンパク質が下流の gp64 遺伝子と同じ読み枠にある場合は、細胞表面上と出芽したウィルス上に呈示されます。インサート内部に終止コドンが存在する場合、N 末端 GP64 シグナル配列と同一の読み枠にあり、膜貫通配列が存在しなければ、目的タンパク質は組換えウィルス感染細胞から分泌されます。

References
Belyaev, A.S. and Roy, P. 1993. Nucleic Acids Res. 21, 1219.
Belyaev, A.S. et al. 1995. Gene 156, 229.
Boublik, Y. et al. 1995. Bio/Technology 13, 1079.
Jarvis, D.L. et al. 1996. inNovations 5, 1.
Weyer, U. and Possee, R.D. 1991. J. Gen. Virol. 72, 2967.







その他の昆虫細胞発現用製品

昆虫細胞用トランスフェクション試薬
Insect GeneJuice ™ トランスフェクション試薬

Insect GeneJuice トランスフェクション試薬は、昆虫細胞のトランスフェクション効率を最大化するために開発されたリポソーム製剤です。細胞に対する毒性が極めて低く、血清を含む培地と血清を含まない培地のいずれでも使用可能で、さらに、一過性・安定性発現どちらにも利用可能です。Insect GeneJuice は、Sf9 細胞および他の昆虫細胞の懸濁培養トランスフェクション用に pIEx/Bac、pIEx および pBiEx Vector などのベクターを使用したタンパク質発現に最適です。

Insect GeneJuice トランスフェクション試薬は、20 mM MES、150 mM NaCl、pH 6.2 バッファーの 2 mg/mL 懸濁液として提供いたします。1 mL で 10 mL 懸濁培養フラスコでのトランスフェクション 12 回あるいは 35 mm プレートでのトランスフェクション 125 回分です。

製品名	包装単位	カタログ番号
Insect GeneJuice Transfection Reagent	0.3 mL	71259-3
	1 mL	71259-4
	10 × 1 mL	71259-5

昆虫細胞株
Sf9 Insect Cell

Sf9 Insect Cell は、*Spodoptera frugiperda* Sf9 細胞の凍結ストックで、あらゆる用途に適した培養の樹立に使用できます。なお、バキュロウィルス組換え体の作成に用いる BacMagic DNA や BacVector Triple Cut Virus DNA とトランスファープラスミドとの共導入、または InsectDirect システムの pIEx/Bac や pIEx、pBiEx ベクター構築 には、これらの細胞と BacVector Insect CellMedium の使用を推奨します。

本細胞は解凍後、組織培養フラスコ中で半接着培養として、またはシェーカーで振とう培養できます。各バイアルには 2 × 10^6 個の細胞が含まれます。

製品名	包装単位	カタログ番号
Sf9 Insect Cells	3 vials	71104-3

高収量昆虫細胞株
TriEx™ Sf9 Cells

TriEx Sf9 Cells は、収量の高い Sf9 細胞クローンをもとに作製された細胞株です。本細胞は、Novagen の無血清 TriEx Insect Cell Medium 中での培養用に開発しました。バキュロウィルス感染または適切なベクターの導入を行なう際、優れた増殖とタンパク質収量を得るために推奨されます。なお、直鎖状バキュロウィルス DNA とプラスミドを共導入する際には、Sf9 Insect Cell と BacVector Insect Cell Medium の使用をお勧めします。細胞を凍結ストックから解凍した後は、組織培養フラスコ中の半接着培養として、またはシェーカーで振とう培養できます。各バイアルには 2 × 10^6 個の細胞が含まれます。

Sf9とTriEx Sf9の適合製品一覧

Application	Sf9 Insect Cells and BacVector Insect Cell Medium	TriEx Sf9 Cells and TriEx Insect Cell Medium
トランスフェクション（プラスミドのみ）	++	+
コトランスフェクション（BacVector あるいはBacMagic DNA, pBAC plasmid DNAと Insect GeneJuice Transection Reagent）	+	–
タンパク質生産量	+	++
高力価のウィルス作製	+	++
プラークアッセイ（従来法）	+	–
プラークアッセイ（FastPlex Titer kit）	+	+

Key: (++) highly recommended, (+) recommended, (–) not recommended

製品名	包装単位	カタログ番号
TriEx Sf9 Cells	3 vials	71023-3

無血清培養培地
BacVector ™ Insect Cell Medium

BacVector Insect Cell Medium は、Sf9 Insect Cell の無血清培養のために最適な培地です。この細胞と培地の組合わせは、Bac Magic DNA または BacVector Triple Cut Virus DNA とトランスファープラスミドの共導入による組換えバキュロウィルスの作製に最適で、BacVector Medium と Sf9 昆虫細胞の組み合わせは Insect GeneJuice トランスフェクション試薬にご使用いただけます。また pIEx/Bac、pIEx、pBiEx ベクターの組換えを用いた一過性発現にもお勧めします。本培地はアガロース重層法を用いたプラークアッセイにも推奨されます。

製品名	包装単位	カタログ番号
BacVector Insect Cell Medium	1 L	70590-3

TriEX Sf9 細胞用培地
TriEx™ Insect Cell Medium

TriEx Insect Cell Medium は、TriEx Sf9 Cell の培養とタンパク質発現用に適した無血清培地です。この細胞と培地の組合わせで、迅速かつ活発な細胞増殖と高いタンパク質発現が実現できます。

製品名	包装単位	カタログ番号
TriEx Insect Cell Medium	1 L	71022-3

バキュロウイルスプラークアッセイ
BacPlaque Agarose

多くの市販の「分子生物学グレード」のアガロースには、昆虫細胞に有毒な汚染物質が含まれているか、バキュロウイルスプラークアッセイに必要な物理的特性に欠けています。BacPlaque Agarose は、プラークアッセイおよびトランスフェクションの実験を事前に検証されており、一貫したパフォーマンスを示します。

製品名	包装単位	カタログ番号
BacPlaque Agarose	30 g	70034-3

トランスフェクション試薬 セレクションガイド

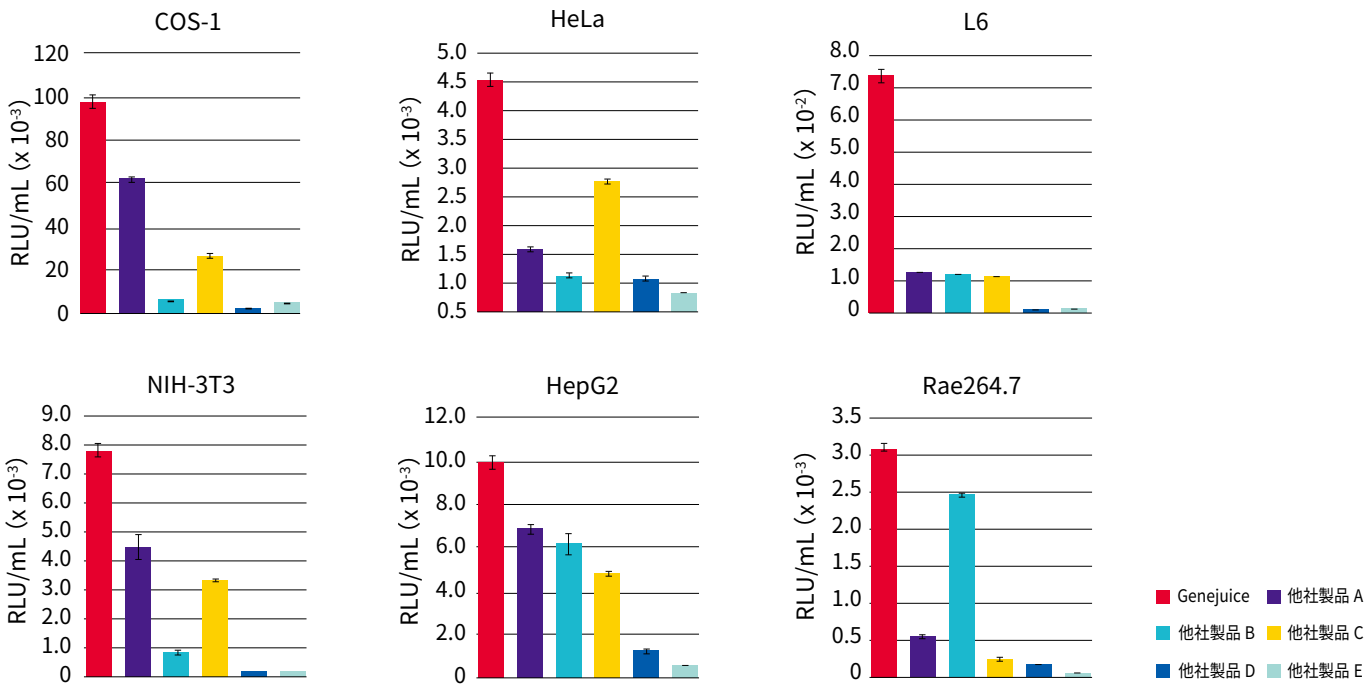
メルクミリポアでは、幅広い実験系に対応したトランスフェクション試薬を取り扱っております。
お客様の実験内容に合わせて、種々の実験系に最適化されたトランスフェクション試薬をご用意いたしました。ほとんどの実験系で培地交換が不要。簡便なプロトコルでお客様のお手間を取らせません。

cell type/ 製品名	ページ	試料	アプリケーション
遺伝子発現			
▼ 確立された細胞株 / 一般的な培養細胞			
GeneJuice™ トランスフェクション試薬	p.19	プラスミド DNA	遺伝子発現、 遺伝子ノックダウン
▼ 初代培養細胞や遺伝子導入の効力が低い細胞			
NanoJuice™ トランスフェクション試薬	p.21	プラスミド DNA	遺伝子発現
▼ 昆虫細胞			
Insect GeneJuice™ トランスフェクション試薬	p.23	直鎖ウィルス DNA、 プラスミド DNA	遺伝子発現
大量培養でのタンパク質発現			
▼ HEK-293 懸濁培養			
293-free トランスフェクション試薬	p.22	プラスミド DNA	遺伝子発現
▼ CHO 細胞			
NovaCHOice トランスフェクション試薬	p.22	プラスミド DNA	遺伝子発現
タンパク質 / ペプチド導入			
▼ ほとんどの細胞種に対応			
ProteoJuice™ トランスフェクション試薬	p.23	タンパク質ペプチド	機能解析、ペプチドライブラリの スクリーニングなど

低毒性かつ高い導入効率
GeneJuice™ トランスフェクション試薬

特長

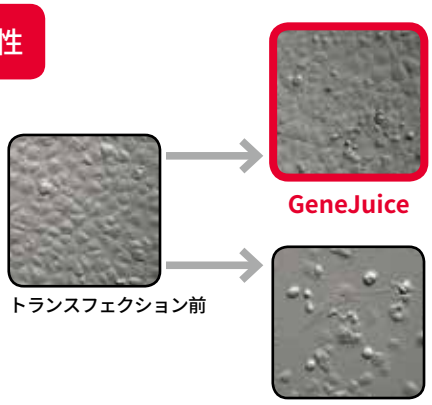
- 一過性にも恒常的にも DNA を効率よく導入
- 低毒性
- 血清含有培地および無血清培地中で使用可能
- マルチウェルプレートを用いたハイスループット遺伝子導入にも最適



汎用的な細胞における GeneJuice と他社トランスフェクション試薬との導入効率の比較

Cell lines were plated at 3 × 10^4 cells per well in 24-well plates the day prior to gene delivery.
Transfections and media changes were performed according to the manufacturers' optimized protocols. For transfection, 0.5 μg of low endotoxin purified pTriEx™-4 Fluc plasmid DNA was complexed with the relevant reagent and introduced into each well. After 48 h, cells were extracted with Reportasol™ Extraction Buffer and Fluc activity was assayed. Data are represented as relative light units per milliliter of extract (RLU/ mL). All values reflect an average of four replicate cultures with standard errors.

低毒性



毒性の比較

Three replicate COS-7 cultures were left untreated, transfected with a popular cationic lipid based transfection reagent, and transfected with GeneJuice according to recommended protocols. Cellular damage is visualized by rounding up and detachment from the plate surface. The photographs, taken 48 h post transfection, show that GeneJuice caused much less cytotoxicity than the other reagent.

製品名	包装単位	カタログ番号
GeneJuice Transfection Reagent	0.3 mL	70967-5
	1 mL	70967-3
	1 mL × 5	70967-6
	1 mL × 10	70967-4

http://bit.ly/genejuice から論文中で使用された細胞株、培養条件、トランスフェクション試薬、DNA 量などの詳細がご覧いただけます。

実績のある細胞株（例）

1321N1 astrocytoma	COS-1	HCT116	HUVEC	Phoenix retroviral producer cell line
A498	COS-7	HEK 293	IMR-90	PK15
ACHN	CV-1	HEK 293 MD-2	K562	Plat-E packaging cell line
AR42J-B13	DU145	HEK 293 TLR4	L6G8	Primary monocyte-derived macrophages
B16-F10	EA cells	HEK 293A	LNCaP	QT-6
BALB/3T3	EPC	HEK 293T	MCF-7	Rat1a
BHK	ES cells	HEK 293-TLR3	MDA MB468	RAW 264.7
BHK21	Fish ES cell line MES1	HEK 293-TLR4	MEF	SG3
C2C12 myoblast cells	GOF18geo-MES1	HEK-beta2	melan	SW13/cl.2
C33A	H1299	HEK-CXCR2	Mouse keratinocyte lines	THP-1
C6	H295R	HEK-m3	Myoblasts, mouse	TREX-SERT
Caki-2	H36CE2	HeLa	NIH 293T	tsA201
CHO	HAEC	HepG2	NIH 3T3	U2-OS
CHO-K1	HCC1937	HS578T	NRK	U373
CHO-T	HCC-BR116	Huh-7	Phoenix retroviral producer cell line	XR-1
CJ179 primary human cells	HCC-EV	Human fibroblast cultures from skin biopsies		

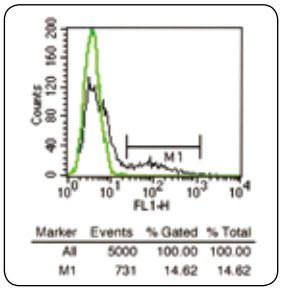
120 種類以上の細胞株で実績があります。

USER DATA　GeneJuice と 他社トランスフェクション試薬の導入率比較

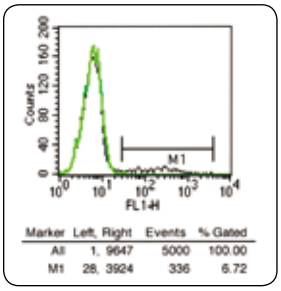
情報提供：順天堂大学大学院　研究基盤センター　細胞機能研究部門　阪西 珠実 先生

● 2 種類のタンパク質 FcεR1γと mouse NKp46 を CHO 細胞へ遺伝子導入した結果。

▼ STEP 1



GeneJuice

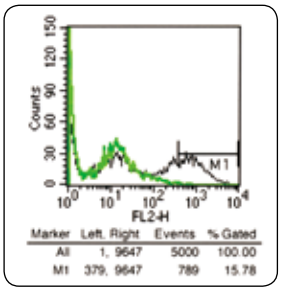


他社製品

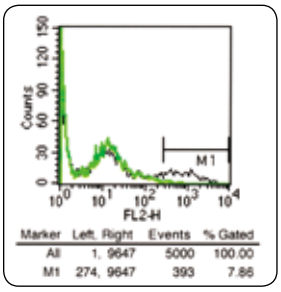
CHO
FcεR1γ/CHO

CHO 細胞を 6well plate に 2 × 10^5 /well 播く。翌日、無血清α MEM medium 100 μL をチューブに入れ、GeneJuice 6 μL を加え、撹拌後室温にて 5 分間インキュベートした。そこに FcεR1γ / pcDNA3.1(+) CTGFPTopo 2 μL を加え、室温にて 15 分間インキュベートした。その後 CHO 細胞へ加えた。導入の翌日 G418 を 1 mg/mL 加えてセレクションした。遺伝子導入 10 日後、FACS Aria BD にて検出した。他社製品データは、同細胞数に対して製品プロトコール通りのトランスフェクション試薬量、DNA 量、作用時間で遺伝子導入し、同様にセレクションした結果。

▼ STEP 2



GeneJuice

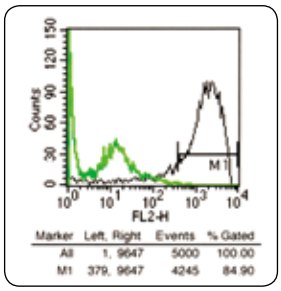


他社製品

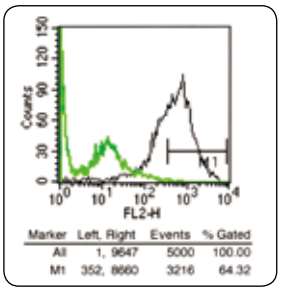
FcεR1γ/CHO+anti mouseNKp46+anti goat IgG PE

mouse NKp46/FcεR1γ /CHO+anti mouse NKp46+anti goat IgG PE

上記の Fc ε R1 γ /CHO 細胞を Facs Aria BD にて 2 回ソーティングして mouse NKp46/pcDNA3.1(+) hygro を導入。細胞数、トランスフェクション試薬量、DNA 量、作用時間は STEP 1 同様。導入の翌日 HygromycinB を 100 μg/ mL 加えてセレクションした。遺伝子導入 10 日後、FACS Aria BD にて検出した。



GeneJuice



他社製品

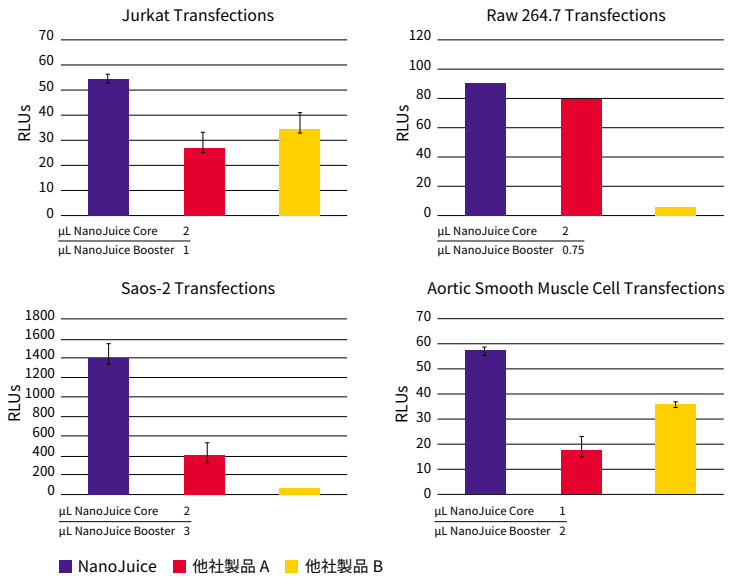
FACSAria ™ にて 2 回ソーティングして得られた結果

遺伝子導入の難しい動物細胞に最適
NanoJuice™ トランスフェクション試薬

ナノテクロノジーで注目のデンドリマーとポリカチオニックリポソームの複合体により、遺伝子導入させる最新のテクノロジーを利用したトランスフェクション試薬です。2 種類の試薬は個別にお求めいただけます。

特長

- 細胞株にあわせて 2 液の配合比を変えて、導入効率を最適化
- 動物由来原料不使用
- 血清含有培地にも無血清培地中にも使用可能



遺伝子導入の難しい細胞における GeneJuice と他社トランスフェクション試薬との導入効率の比較

Cell lines were plated in 24-well plates 18-24 h prior to transfection, such that cells were 80% confluent at time of transfection. Transfections were performed according to the manufacturers' optimized protocols. For transfection, 0.25 μg of low endotoxin-purified pTriEx-6 Rluc plasmid DNA was complexed with the relevant reagent and introduced into each well. After 24-48 h, the cells were extracted with Reportasol Extraction Buffer and Rluc activity was assayed. Data are represented as relative light units per well (RLU/well). All values reflect an average of four replicate cultures with standard errors.

実績のある細胞株（例）

22RV1	HBEC (primary)	NHDF (primary)
A431	HeLa	NIH 3T3
A549	HUVEC (primary)	PC3
AoSMC (primary)	Jurkat	Raw 264.7
Caco-2	LA-4	Saos-2
CHO-K1	MCF-7	T47D
E17 (primary)	Met-1	U87MG
E6 and E7	MRC-5	WM2664
HaCaT	MTLn3	

製品名	包装単位	カタログ番号
NanoJuice Transfection Kit	240 回分	71902-3
	2400 回分	71902-4
NanoJuice Core Transfection Reagent	1 mL	71900-3
NanoJuice Transfection Booster	1 mL	71901-3

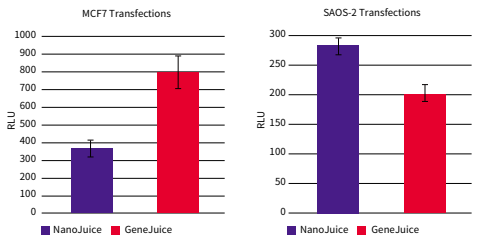
FAQ

NanoJuice と GeneJuice の違いは何ですか？同じ目的の試薬のようですが、どのように使い分ければいいですか？

GeneJuice トランスフェクション試薬は、細胞に対して毒性のないヒストンと少量のポリアミンを主成分としています。ヒストンとポリアミンはマイナスチャージを持つ DNA を圧縮して中性化するのを促進し、その結果 DNA は同じくマイナスチャージをもつ細胞膜を透過することができます。つまり、GeneJuice を用いた遺伝子導入は、エンドサイトーシスとエンドヌクレオシスのコンビネーションで行われます。高カチオン性ポリアミンも GeneJuice-DNA 複合体の小胞輸送を促進します。

NanoJuice トランスフェクション試薬は二つの試薬が混合され、相乗的に働きます。デンドリマーとポリカチオニックリポソームとの複合体が遺伝子を導入します。低毒性で細胞に合わせて 2 つの液の配合比をカスタマイズできるので、初代培養細胞や遺伝子導入の難しい細胞に最適なトランスフェクション試薬を調製することが可能です。デンドリマーは高密度なプラスチャージを表面に持っていて、マイナスチャージを持つ核酸と相互作用します。デンドリマーと DNA の複合体はプラスチャージを持っているので、エンドサイトーシスで細胞に取り込まれます。

GeneJuice はさまざまな細胞株に幅広くお使いいただけます。しかし、トランスフェクションの難しい細胞株や初代培養株などは NanoJuice をお使いいただいて、それぞれの細胞に合わせて最適化していただくほうが効率的です。



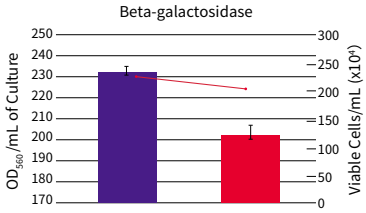
細胞ごとの GeneJuice と NanoJuice の導入効率の違い

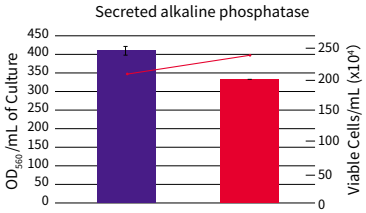
Cells were plated in 24-well plates 18-24 h prior to transfection, such that the cells were 80% confluent at the time of transfection. For transfection, 0.25 μg pTriEx-6 RLuc plasmid DNA was complexed with the relevant reagent and introduced into each well. After 24–48 h, the cells were extracted with Reportasol Extraction Buffer and RLuc activity was assayed. All values reflect an average of four replicate cultures with standard errors.

浮遊 HEK293 細胞に最適
293-Free トランスフェクション試薬

特長

- 浮遊 HEK293 細胞に特化
- 動物由来原料不使用
- 低毒性
- 血清含有培地および無血清培地中で使用可能





293-Free Transfection Reagent
他社製品 A

293-Free トランスフェクション試薬と他社製品との導入効率（棒グラフ）と細胞生存率（赤線）の比較

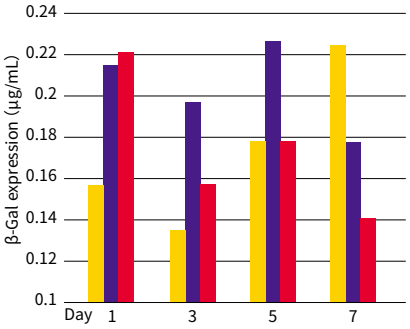
20 mL of 1 × 10^6 cell/ mL 293-F cells in 125 mL disposable Erlenmeyer flasks were transfected according to the manufacturer's recommended protocol for each transfection reagent. At 72 h post-transfection, cultures were harvested and assayed for reporter gene activity.

製品名	包装単位	カタログ番号
293-free Transfection Reagent	1 mL	72181-3
	1 mL × 5	72181-4
	1 mL × 10	72181-5

浮遊 CHO 細胞に最適
NovaCHOice トランスフェクション試薬

特長

- 浮遊 CHO 細胞に特化
- 動物由来原料不使用
- 低毒性
- 血清含有培地および無血清培地中で使用可能



他社製品 A
NovaCHOice Transfection Reagent
NovaCHOice Transfection Reagent with Booster

NovaCHOice transfection kit と他社製品とのタンパク質発現時間の違い

ß-Galatosidase expression data in CHO-S cells at 1, 3, 5 and 7 days post transfection using NovaCHOice Transfection Kit and a competing reagent according to manufacturer's protocol. Results show that higher protein expression was detected on Day 1 in cells transfected with NovaCHOice Transfection Kit than in those transfected with transfection reagent F.

製品名	包装単位	カタログ番号
NovaCHOice Transfection Kit	1 mL	72622-3
	1 mL × 10	72622-4

昆虫細胞に最適
Insect GeneJuice™ トランスフェクション試薬

特長

- ウィルス感染と同様に、一過性にも恒常的にも DNA を効率よく導入
- 低毒性
- 血清含有培地および無血清培地中で使用可能

製品名	包装単位	カタログ番号
Insect GeneJuice Transfection Reagent	0.3 mL	71259-3
	1 mL	71259-4
	1 mL × 10	71259-5

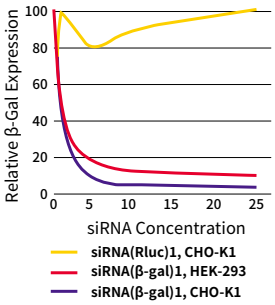
siRNA 導入に最適
RiboJuice™ siRNA トランスフェクション試薬

特長

- GeneJuice との併用可
- 低毒性
- 血清含有培地および無血清培地中で使用可能

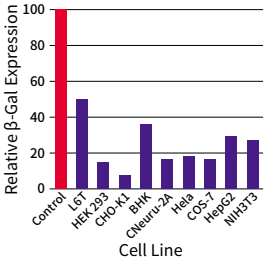
実績のある細胞株（例）

A549	HepG2	Neuro-2A
BHK	HONE-1	NIH 3T3
CHO	L428	Primary or first passage rat HSC
COS-7	L591	Primary aortic smooth muscle
HEK293	L6	Primary keratinocytes
HeLa	MCF-7	



β -galactosidase の siRNA を導入した際の各濃度による発現の違い

CHO-K1 and HEK 293 cells plated at 50,000 cells per well were transfected after 24 h with two mixtures. One mixture contained 1 µL GeneJuice™ Transfection Reagent, 0.25 µg pTriEx™ -2(b-gal), and 0.025 µg pTriEx-2(Fluc). The other mixture contained 3 µL RiboJuice™ siRNA Transfection Reagentand either 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, or 25 nM (final concentration) of the indicated siRNAs. As a control, 3 µL RiboJuice was also used without any siRNA. Total volume per well was 300 µL. Cells were lysed with Reportasol™ Extraction Buffer 24 h after transfection and assayed for reporter activity. All assays were performed in triplicate and variation is expressed as standard error of the mean.



β -galactosidase を発現させた様々な細胞における siRNA による抑制の違い

he indicated cell lines were plated at 50,000 cells per well and transfected after 24 h with two mixtures. One mixture contained 1 µL GeneJuice Transfection Reagent, 0.25 µg pTriEx-2(b-gal), and 0.025 µg pTriEx™ -2(Rluc). Mixture two contained 3 µL RiboJuice siRNA Transfection Reagent and 10 nM (final concentration) siRNA(b-gal)1. For each cell line, a reaction lacking siRNA was used as a control (normalized to 100%). Total volume per well was 300 µL. Cells were lysed with Reportasol™ Extraction Buffer 24 h after transfection and assayed for reporter activity. All assays were performed in triplicate and variation is expressed as standard error of the mean.

製品名	包装単位	カタログ番号
RiboJuice Transfection Reagent	0.3 mL	71115-3
	1 mL	71115-4

タンパク質導入に最適
ProteoJuice™ Protein トランスフェクション試薬

特長

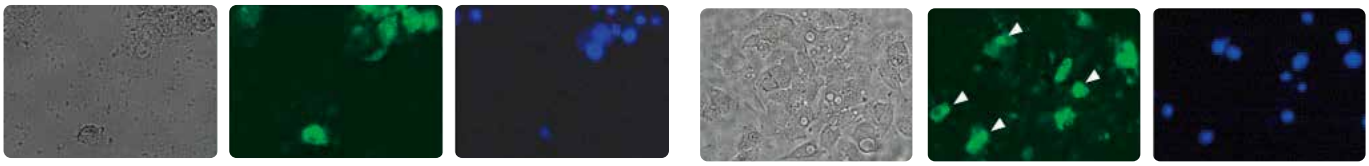
- ペプチドまたはタンパク質の導入が可能
- 低毒性
- 血清含有培地および無血清培地中で使用可能

実績のある細胞株（例）

A549	MCF-7	CV-1	Raw 264.7	L6
COS-7	PC12	HEK-293	CHO-K1	NIH-3T3
HepG2	BHK-21	Neuro2A	HeLa	

エストラジオール処理（-）　　エストラジオール処理（+）

A. brightfield　B. FITC　C. DAPI　D. brightfield　E. FITC　F. DAPI



ProteoJuice を用いて HepG2 細胞に導入されたエストロジェン受容体の局在

HepG2 cells were transfected with FITC-labeled estrogen receptor by using ProteoJuice. After incubation, washed cells were exposed to DAPI nuclear stain for 2 min, followed by four additional washes in PBS before microscopy. Panels A, B, and C: no estradiol treatment; panels D, E, and F: estradiol (Calbiochem, 17b-estradiol) treatment. Images depict brightfield (panels A and D), FITC fluorescence (panels B and E), and DAPI fluorescence (panels C and F) views, with the same cells in panels A, B and C and in panels D, E, and F. Arrows indicate estrogen receptor localization in nuclei.

製品名	包装単位	カタログ番号
ProteoJuice Transfection Reagent	0.125 mL	71281-3

注目製品

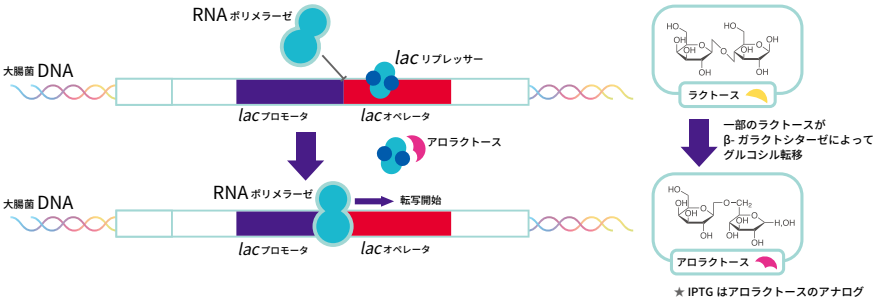
大腸菌タンパク質発現の強力なツール
IPTG 不要な自動タンパク質発現誘導システム
Overnight Express™ Autoinduction Systems

特長

- IPTG 不要なので、OD 測定の必要なし
- 発現タンパク質の収量が大幅アップ
- 培養時間が大幅に短縮
- pET などの T7 発現ベクターと BL21（DE3）などの Lac operon を持つ大腸菌で使用可能

オーバーナイトエクスプレスの原理 *

本システムは、糖のバランスによって IPTG を添加しなくても大腸菌の増殖にしたがって自動的にタンパク質の発現誘導がかかるシステムです。このシステムにはグルコースとラクトースが含まれており、大腸菌はグルコースを炭素源として初期増殖します。グルコースが枯渇すると C 源がラクトースに切り替わり、そのラクトースがアロラクトースに変換され、*lac* リプレッサーと結合します。その結果リプレッサーが *lac* オペレータより外れて RNA ポリメラーゼがプロモータに結合し、転写が開始されてタンパク質発現がはじまります。



* ラクトースがアロラクトースに変換されることで発現誘導が始まるため、*lac* permease (*lacY*) や*β -garactosidase* (*lacZ*) がホスト株に保持されていることが必須条件となります。

製品名	包装単位	カタログ番号
顆粒培地で簡単に		
Overnight Express Instant LB Medium	1 L 用（45 g 入り× 1 パック）	71757-3
	5 L 用（45 g 入り× 5 パック）	71757-4
	1 kg（約 22 L 分、ボトル入り）	71757-5
Overnight Express Instant TB Medium	1 L 用（60 g 入り× 1 パック）	71491-3
	5 L 用（60 g 入り× 5 パック）	71491-4
	1 kg（約 16 L 分、ボトル入り）	71491-5
お使いの培地に添加して		
Overnight Express Autoinduction system 1	1 L 用	71300-3
	5 L 用	71300-4
X 線結晶解析に		
Overnight Express Autoinduction system 2	1 L 用	71366-3
	5 L 用	71366-4
NMR 構造解析用に		
Overnight Express Autoinduction NMR Medium - ^{15}N 構造を決定するために N をラベルするキット	1 L 用	71759-3
	5 L 用	71759-4
Overnight Express Autoinduction NMR Medium - ^{15}N, ^{13}C N と C をダブルでラベルするキット	1 L 用	71789-3
Overnight Express Autoinduction NMR Medium-Optimization 培養条件検討用ノンラベルキット	1 L 用	71760-3

Overnight Express の最新情報はこちらから **http://bit.ly/2kDZDiV**

メルク公式アカウント 友だち追加はコチラ

サイエンス系お役立ちメディア M-hub

かんたんカタログ検索 カタログファインダー

メルク ライフサイエンス公式 Facebook ページ
メルク ライフサイエンス - Merck で検索

メルク ライフサイエンス公式 Twitter アカウント
メルク ライフサイエンス - Merck で検索

メルク ライフサイエンス - メールニュース
www.merckmillipore.jp/wm

メルク株式会社
ライフサイエンス リサーチ事業部
〒 153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F
製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.com/bio
E-mail: jpts@merckgroup.com
Tel: 03-4531-1140 Fax: 03-5434-4859

RBM142-1909-PDF-H