

利用・用途・応用分野

無料開放特許

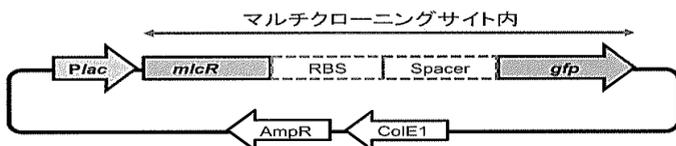
遺伝子クローニングを行う際のクローニングの成否確認を行う方法

目的・課題

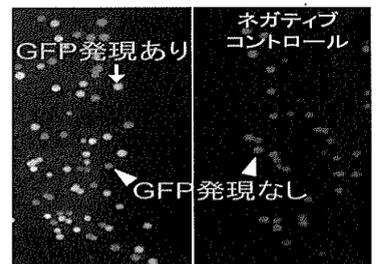
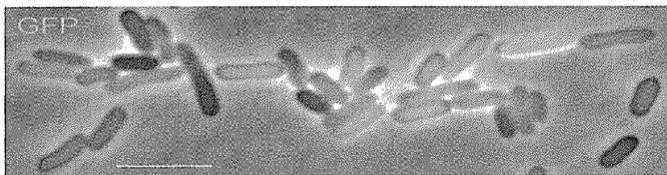
解決ポイント

大腸菌を用いたタンパク質生産において様々な発現系ベクターが開発されてきている。最も広く使われているpET発現系ベクターは発現が十分でない場合があり、pCold発現系ベクターでは、目的の発現タンパク質とTEEが融合したままになるという問題があった。そこで、翻訳促進効果のある配列を発現対象のタンパク質をコードするポリヌクレオチドの非翻訳領域に含むように設計された原核生物用発現ベクターを提供することを課題とする。

細胞性粘菌のミオシン調節軽鎖(myosin regulatory light chain:mlcR)遺伝子に着目し、mlcR遺伝子をコードするポリヌクレオチドと共にリボソーム結合部位(Ribosome binding site:RBS)をコードするポリヌクレオチドを、pUCベクターに組み込んで大腸菌を形質転換したところ、イソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド(IPTG)等の転写促進剤不含培地で培養した形質転換体においてGFPが高発現していることを見出した。



↓ 形質導入によるGFP発現



スクリーニングへの活用

寒天プレートに簡易青色LED照明を照射
GFP蛍光の有無を容易に識別できる

研究概要・アピールポイント

- ◆ 原核生物を用いて有用なタンパク質の生産が可能となる。
- ◆ 通常の培地を使った培養だけで恒常的にGAPを発現できる。
- ◆ 発現対象のタンパク質の発現量を、変異を加えることなく高めることができる。

◆ お問い合わせ先 ◆

有限会社山口ティール・エル・オー TEL: 0836-22-9768 E-mail:tlojim@yamaguchi-u.ac.jp