

タイトル: コールドショック発現系とシャペロンプラスミドの併用によるタンパク質の可溶性発現の向上

カテゴリ: タンパク質発現

キーワード: タンパク質発現、可溶化、大腸菌、コールドショック発現、pCold®

データソース: タカラバイオ株式会社

方法:

pCold® I DNAヒト遺伝子クローンとシャペロンプラスミドpG-Tf2との共発現を行った。

- 1) シャペロンプラスミドpG-Tf2 (Chaperone Plasmid Set, 製品コード [3340](#))でTakara Competent Cell BL21 (製品コード [9126](#))を形質転換した。
- 2) ヒト遺伝子A (推定分子量70 kDa)またはB (推定分子量24 kDa)をpCold® I DNA (製品コード [3361](#))にクローニングしたベクターで、1)の大腸菌を形質転換した。
- 3) アンピシリン、クロラムフェニコール、1 ng/mlテトラサイクリンを含むL培地で、37°Cで培養した。
- 4) OD₆₀₀=0.4~0.5付近で15°Cに冷却し、30分間静置した。
- 5) 0.5 mM IPTGを添加し、15°Cでさらに24時間振とう培養した。
- 6) 集菌、破碎後、全タンパク質画分、可溶性画分をSDS-PAGEにより分析した。

結果:

シャペロンプラスミドを共発現させることで、目的の可溶性タンパク質の発現が向上した。

1) ヒト遺伝子A (推定分子量70 kDa)の発現結果

pCold® I DNA単独の発現系ではほとんどすべてが不溶性発現となったが、シャペロンプラスミドを共発現させた系では可溶性画分の発現量が顕著に増加した (Fig. 1)。

2) ヒト遺伝子B (推定分子量24 kDa)の発現結果

pCold® I DNA単独の発現系ではほとんど発現が認められなかったが、シャペロンプラスミドを共発現させた系では発現が確認されただけでなく、そのほとんどが可溶性画分に発現した (Fig. 2)。

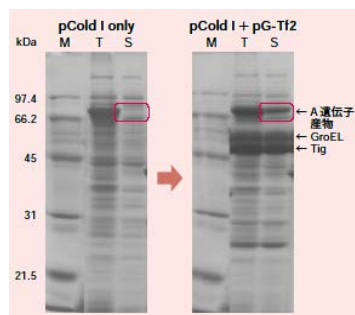


Fig.1

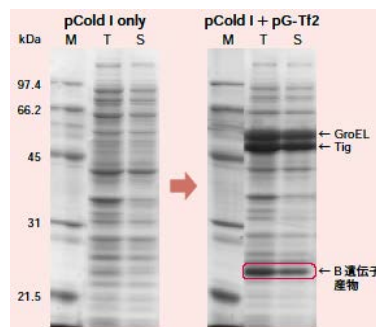


Fig.2

M : マーカー ; T : total ; S : soluble

備考:

Chaperone Competent Cell BL21 Set (製品コード [9120](#)),

Chaperone Competent Cell pG-Tf2/BL21 (製品コード [9121](#)),

pCold® Vector Set (製品コード [3360](#))

http://catalog.takara-bio.co.jp/PDFFiles/46_12-13.pdf