

목적 단백질의 가용화 회수율의 향상

ProFold™ baculovirus vector

AV100	ProGreen™	2.5 µg
AV101	ProFold™-C1	2.5 µg
AV102	ProFold™-C2	2.5 µg
AV103	ProFold™-ER1	2.5 µg
AV106	ProFold™-PDI	2.5 µg
AV107	ProFold™-PDI'	2.5 µg
AV108	ProFold™-0	2.5 µg

본 제품은 AB vector 제품입니다.  AB Vector

재조합 baculovirus를 이용한 단백질 expression은 숙주 곤충 세포내에서의 ①번역 후 수식(인산화, myristoylation화, palmitoylation화 등), ②포유동물에 가까운 당쇄 수식(N-glycosylation), ③분자량이 큰 단백질의 expression 가능, ④expression 단백질이 대량인 경우에도 가용성 분획으로 비교적 회수가 용이, ⑤expression계에 영향을 미치는 단백질 함량이나 단백질분해 효소량이 적어 정제가 비교적 용이하다는 등 대장균과 효모에서는 찾아볼 수 없는 많은 잇점이 있으며, 주로 포유동물에서 유래한 단백질의 대량 expression계로 구조해석 연구나 기능 해석 연구에 응용되고 있다. 세포내에서의 "over expression"으로 비정상적으로 folding된 목적 단백질이 inclusion body를 형성하면서 응집하거나 효소분해를 받게 되는 사례가 자주 발생한다. 이는 세포내의 분자 chaperon이 없어져서 일어나는 현상으로 보고되었으며, 지금까지 분자 chaperon을 공급하는 vector를 함께 도입하는 방법으로 대부분의 연구가 진행되었으나, 도입한 세포에 따라 chaperon expression량에 차이가 있기 때문에 목적단백질의 가용성이나 수량이 불안정하다는 문제를 안고 있었다(그림 1 참조).

AB Vector의 ProFold baculovirus vector 시리즈는 이러한 문제를 해결하는 솔루션을 제공한다.

ProFold vector는 Clontech의 핵다각체형 baculovirus(AcNPV) 유래의 BacPAK6™ Viral DNA(Bsu36 I digest)(Kitts A.P. and Possee R.D., *Biotechniques*, **14**: 810-817, 1993)를 기본으로한 vector이다. 본 vector는 바이러스 감염말기에 대량 expression하는 핵다각체의 주요 구성 물질인 polyhedrin을 코드하는 바이러스 genome 부위를 제한효소 Bsu36 I로 절단하여 linear화 하고, human 유래(일부 효모유래)의 분자 chaperon을 코드하는 유전자가 본 vector상에 있다(그림 2 참조). 목적 유전자를 클로닝한 plasmid transfer vector와 ProFold vector를 곤충 세포주(Sf9, Sf21 등)에 co-transfection함으로써 polyhedrin 부위에서 homologous recombination으로 목적 유전자가 도입된 재조합 baculovirus 입자를 고효율로 분비시킬 수 있다. ProFold vector 시리즈는 expression하고자 하는 목적 단백질의 localization(세포질 단백질, 막 단백질, 분비 단백질)이나 ER(소포체) 이동성 등을 통하여 최적의 분자 chaperon을 선택할 수 있다(표 1, 그림 3 참조).

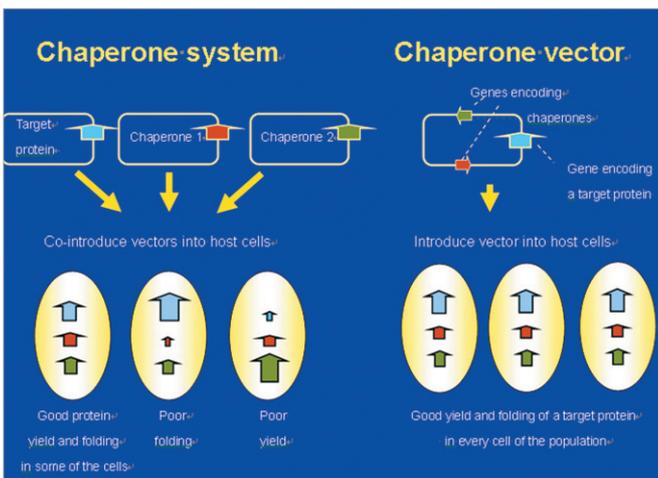


그림 1

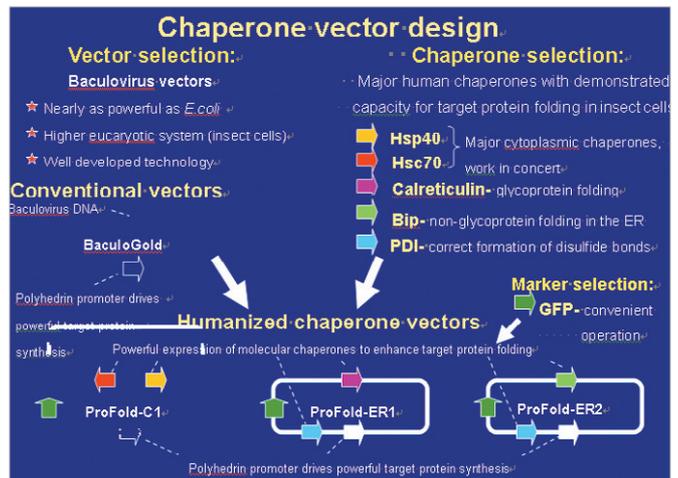


그림 2

표 1 각 vector의 marker, 분자 chaperon 등 기능 단백질의 재조합과 발현 수준

Marker, 분자 chaperon 종류	GFP	β gal	Hsc70	Hsp40	Calreticulin	PDI
역할	증식의 모니터링, 역가측정에 이용	재조합체의 plaque assay에 이용	세포질내 chaperon	세포질내 chaperon	ER내의 당단백질의 folding	ER에서 disulfide 결합 재조합
제품명	TaKaRa Code	Protein Expression Level				
ProGreen	A1	+++	+++++			
ProFold-C1	A2	+++	+++++	+++	++	
ProFold-C2	A3	+++	++++	+++	+++++	
ProFold-ER1	A4	+++	+++++			+++
ProFold-PDI	A7		+++++			++++
ProFold-PDI*	A8		+++++			++++
ProFold-0	A9		+++++			+

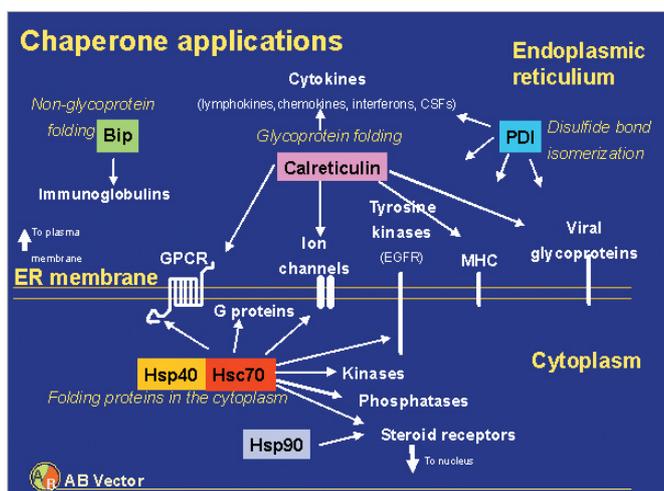


그림 3

ProFold-C1, ProFold-C2는 세포질내의 주요한 분자 chaperon인 human 유래 Hsc70/Hsp40를 공급하는 vector로, 목적 단백질이 세포질에 국제적으로 존재하는 경우에 최적이다. ProFold-ER1은 ER에서 당단백질의 folding을 촉진하는 human 유래 calreticulin 및 disulfide 결합을 촉매하는 human 유래의 protein disulfide isomerase(PDI)를 공급하는 vector로 막 단백질, 분비 단백질 혹은 시스틴 성분이 풍부한 단백질 등 ER 이송성 당단백질의 expression에 최적이다. 또, ProGreen, ProFold-C1, -C2, -ER1에는 *Aequorea victoria* 유래의 녹색 형광 단백질인 GFP를 marker로 하여 expression하므로 바이러스 증식 모니터링, 배양조건의 최적화, GC(Green control)를 기준으로 한 “terminal green dilution”으로 바이러스 stock의 역가측정을 간편하게 할 수 있다(그림 4 참조).

보존

4℃

특징

- 분자 chaperon으로 가용성과 회수율을 대폭 향상
- 목적 단백질의 국제성에 따른 vector 선택 가능
- GFP로 역가측정, 증식 모니터링이 가능
- 일반적인 transfer vector의 이용이 가능

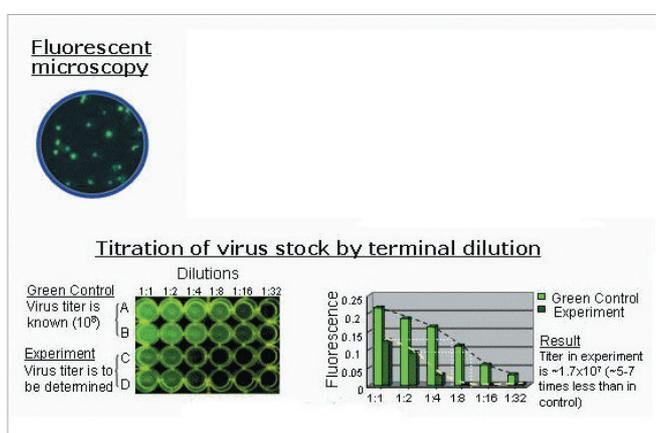


그림 4

[관련제품]

● Control Virus

TaKaRa Code	제품명	Size
AV300	NC (negative control)	1 ml, 10 ⁸ pfu/ml
AV301	GC (green control)	1 ml, 10 ⁸ pfu/ml

● Transfer vector

TaKaRa Code	제품명	Size
AV200	pVL1393	2.5 μ g
AV201	pAcAB3	2.5 μ g
AV202	pAB-bee™	2.5 μ g