

迅速な長鎖遺伝子合成とpEFベクターを用いたタンパク質発現

科学技術の発展に伴い、目的に応じた機能を持つタンパク質を自由に設計し、様々な実験に活用する時代が到来しています。しかし、その設計図となる遺伝子の作製やタンパク質発現系の構築には膨大な時間と労力がかかります。人工遺伝子合成は、目的とする機能を持つ遺伝子を配列情報から合成する技術で、自然界に存在しない遺伝子でも合成可能です。そのため、既存の手法では困難だった複雑な遺伝子でも効率よく調製することができます。

本実験では、弊社の人工遺伝子合成技術を用いて、長鎖遺伝子の合成（MBP-Cas9-EGFP融合遺伝子：6210 bp、図1）と、その発現・活性測定を行いました。

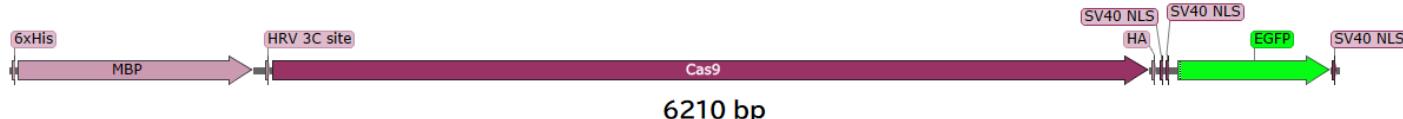


図1 MBP-Cas9-EGFPの構造

方法

MBP-Cas9-EGFP融合遺伝子を設計し、弊社技術を用いて人工遺伝子合成を行い、弊社標準タンパク質発現ベクター-pEFkへのクローニングを行いました。作製した発現ベクターを用いて、タンパク質発現用大腸菌BL21(DE3)を形質転換し、MBP-Cas9-EGFP融合タンパク質を発現させました。発現させたタンパク質は、Ni-NTA樹脂を用いて精製しました。また、精製したMBP-Cas9-EGFPを用いて、DNAの切断試験を行いました。

結果

本実験では、弊社技術を活用することにより、わずか4日間で6210 bpの遺伝子の合成とタンパク質発現用ベクター-pEFkへのクローニングを完了できました。得られた発現ベクターを用いてタンパク質発現実験を行ったところ、MBP-Cas9-EGFPを得ることができました（図2）。また、精製したMBP-Cas9-EGFPは、sgRNA（弊社合成品）依存的なDNA切断活性を示しました（図3）。

弊社人工遺伝子合成サービスでは、6000 bpまでの合成鎖長であれば最短4営業日の人工遺伝子合成が可能です（図4）。

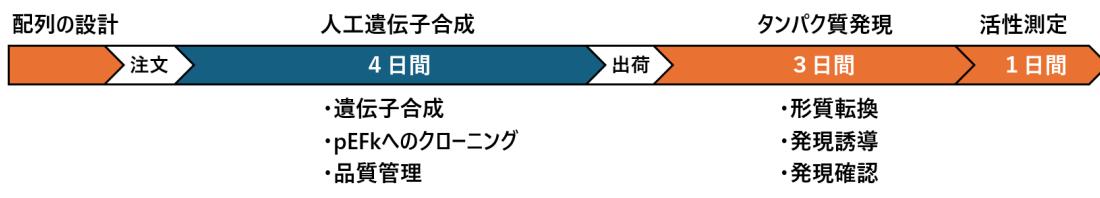


図4 人工遺伝子合成技術を用いた迅速なタンパク質発現系の構築

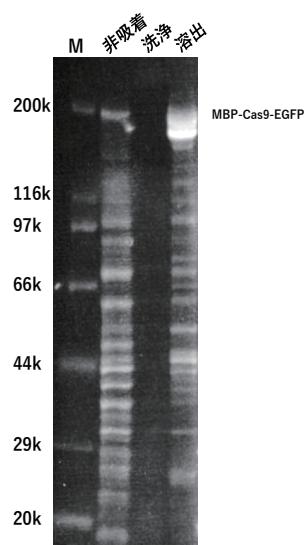


図2 SDS-PAGE解析

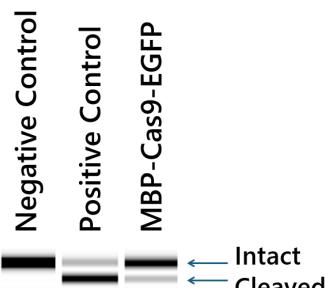


図3 DNA切断試験

<<迅速なタンパク質発現系の構築には弊社の人工遺伝子合成サービスをご利用ください！！>>