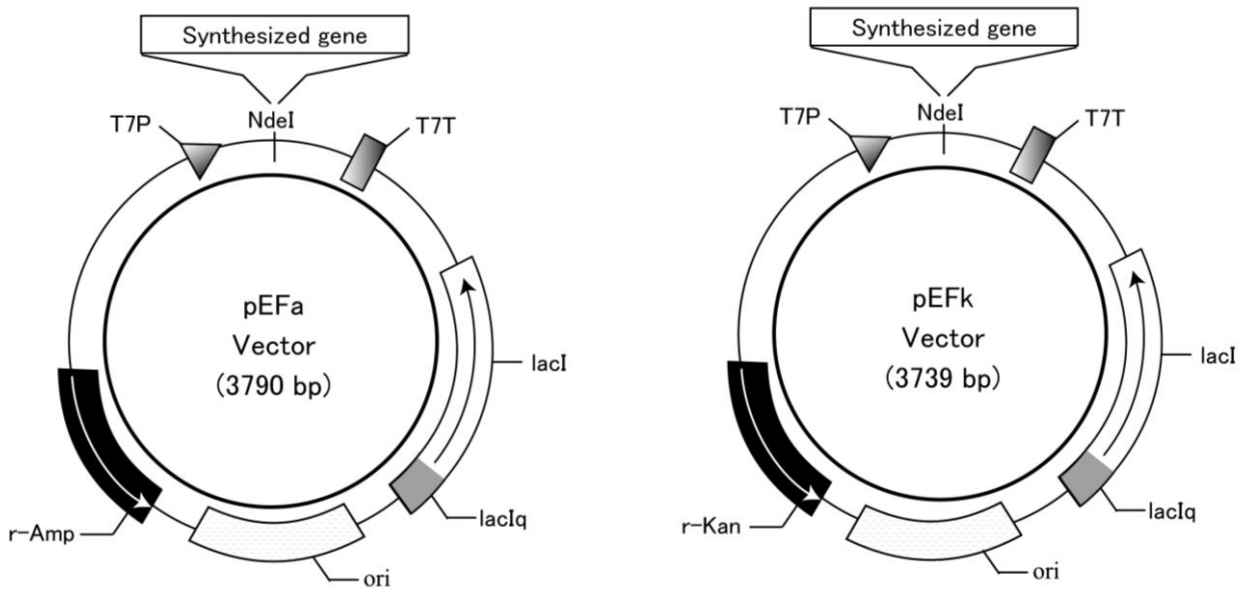


高コピーでIPTGストレスに強いタンパク質発現用ベクター（pEFa・pEFk）

ファスマックの人工遺伝子合成サービスでは、大腸菌用のタンパク質発現ベクターpEFをご用意しております。お客様からのベクター送付は不要で、追加納期なく※1、サブクローニングが可能となります。pEFベクターはpEFa（アンピシリン耐性）、pEFk（カナマイシン耐性）の2種類を用意しております。



pEFベクターの特徴（大腸菌発現ベクターとして標準的に使用されるpETと比較）

- ① 高コピーでプラスミド収量が向上する
- ② 同程度のタンパク質の発現量がある
- ③ 基底発現レベルが抑えられる
- ④ IPTG添加によるストレスが低減される

⇒既存の大腸菌発現ベクターよりも扱いやすく安定的なタンパク質発現が見込まれます。 ※2

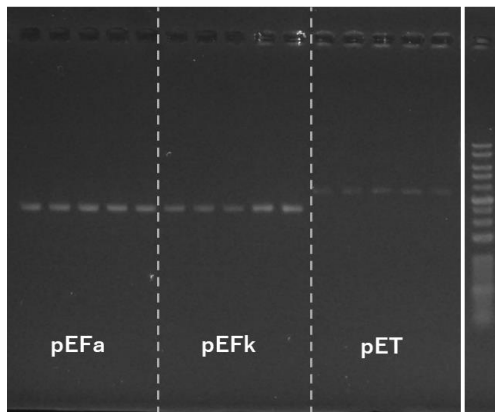
※1 繰返配列やGC含量の偏り等合成が困難な場合は追加料金・追加納期をいただく場合がございます。

※2 全てのタンパク質の発現を保証するものではありません。

pEFベクター試験結果

(1) プラスミド収量試験

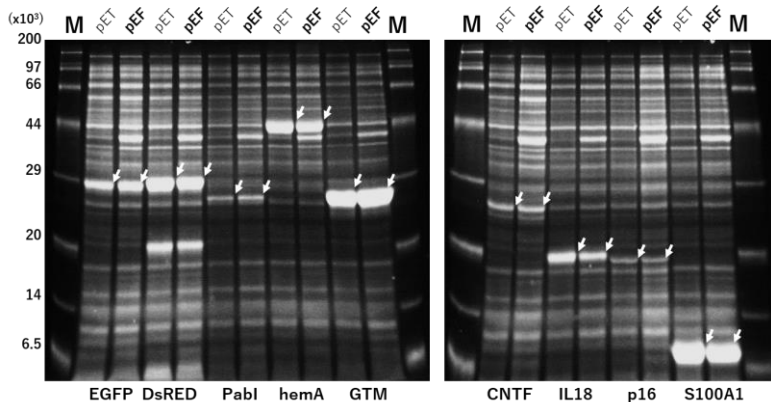
37°Cでo/n培養したときのプラスミド収量の違いを確認。
(各ベクター5クローンずつ泳動。右端はマーカー)



⇒ pEFベクターでは、pETベクターに比べ
顕著にプラスミド収量が向上しました。

(2) タンパク質発現試験

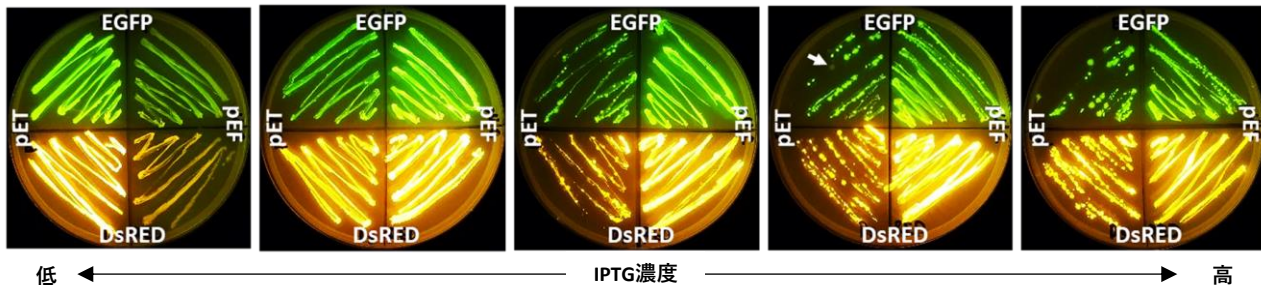
複数のタンパク質について発現量の違いをSDS-PAGEで確認。
(誘導条件：0.5 mM IPTG室温でo/n培養、菌体破碎後、遠心上清を使用)



⇒ pEFベクターでは、pETベクターと同程度の発現量がありました。

(3) IPTGに対する応答試験①

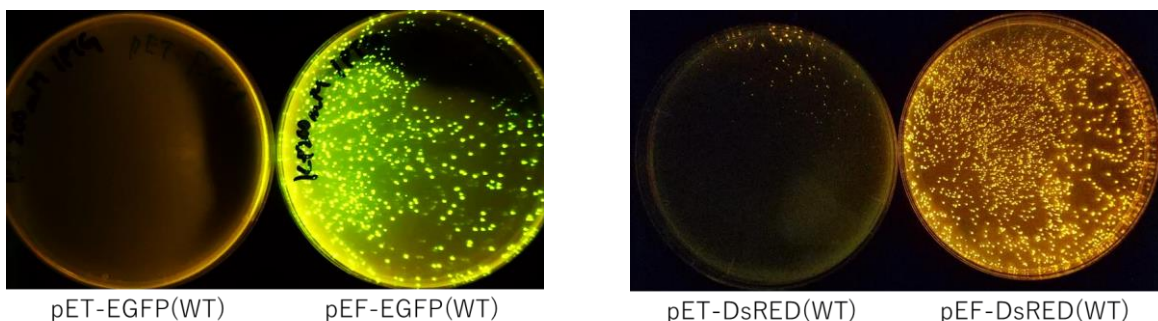
EGFPおよびDsREDを発現するベクターをBL21(DE3)に形質転換し、
10 uM, 100 uM, 200 uM, 400 uM, 800 uMのIPTGを含むLB寒天培地へ植え継ぎ、一晚培養 (37°C) し、蛍光を検出しました。



- ・低IPTG濃度(10 uM)の場合、pEFベクターでは、pETベクターに比べ発現が抑えられました。
⇒ pEFベクターでは、基底発現レベルが低く抑えられている。
- ・高IPTG濃度(>100 uM)の場合、pETベクターでは生育阻害が顕著に起こり、pEFベクターでは抑えられました。
⇒ pEFベクターでは、IPTG添加のストレスが低減されている。

(4) IPTGに対する応答試験②

EGFPおよびDsREDを発現するベクターをBL21(DE3)に形質転換し、
200 uMのIPTGを含むLB寒天培地で一晚培養 (37°C) し、蛍光を検出しました。

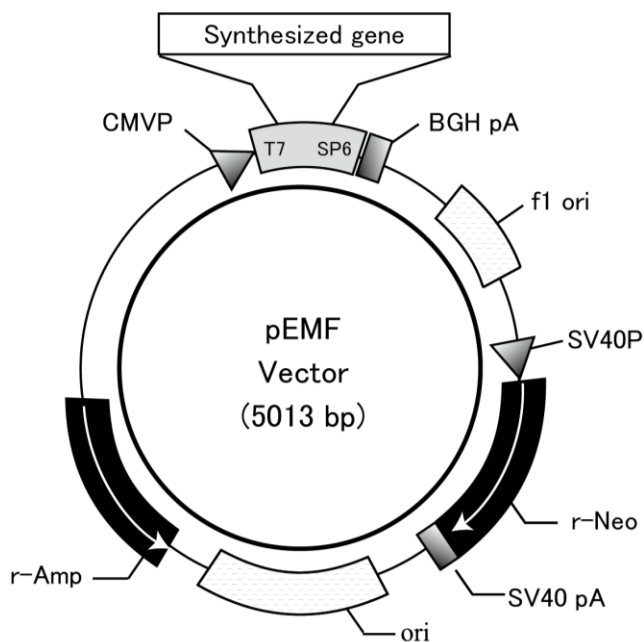


- pEFベクターでは、蛍光を発するコロニーが多数得られました。
⇒ pEFベクターでは、IPTG添加のストレスが低減されている。

哺乳動物用タンパク質発現ベクター (pEMF)

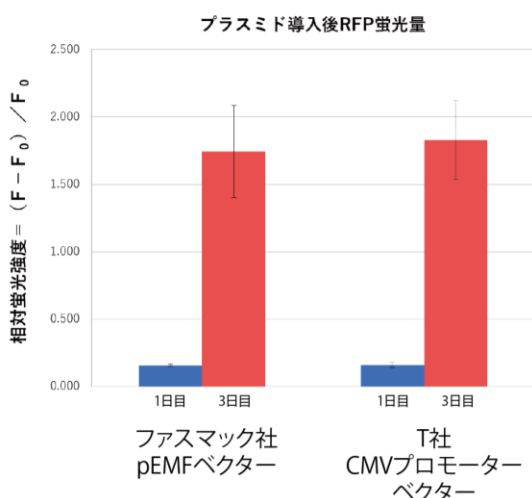
ファスマックの人工遺伝子合成サービスでは、哺乳動物用タンパク質発現ベクターpEMFをご用意しております。お客様からの**ベクター送付は不要**で、**追加納期なく**※1、サブクローニングが可能となります。pEMFベクターはアンピシリン耐性遺伝子、ネオマイシン耐性遺伝子を搭載しております。

ベクターマップ



タンパク質発現確認

HEK293細胞でRudolphRFPを発現させ、蛍光を測定



⇒市販ベクターと同等のタンパク質発現が確認された。

※1 繰返配列やGC含量の偏り等合成が困難な場合は追加料金・追加納期をいただく場合がございます。