



New

遺伝子機能解析

タンパク質

相互作用

膜内在性タンパク質の相互作用を解析するキット

## Y2H Membrane Pairwise Interaction Kit

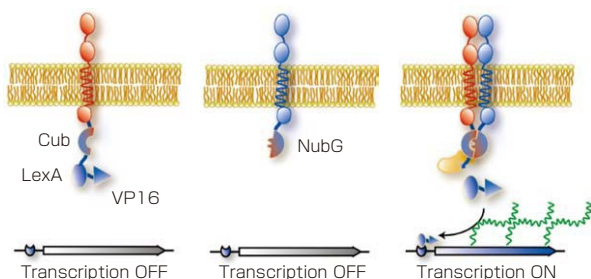
膜内在性タンパク質、膜結合タンパク質の相互作用を *in vivo* で解析できる酵母 Two-Hybrid System (Y2H) です。

粗面小胞体膜上で全長の目的タンパク質 (bait および prey) を発現させることにより、相互作用のあるタンパク質のスクリーニングを効率良く行うことができます。

### 特長

- ◆ Split-ubiquitin (下記「原理」参照) 法を用いた Two-Hybrid システムです。
- ◆ 既知の膜タンパク質二量体形成の検出、相互作用領域の決定、cDNA ライブラリーからの結合タンパク質スクリーニングなどに有用です。また、膜タンパク質と可溶性タンパク質の相互作用の解析にも有用です。
- ◆ 宿主酵母 (NMY51) は bait-prey の相互作用により、*ADE2*、*HIS3* および *lacZ* をレポーターとして発現します。
- ◆ *ADE2* の発現によりコロニーの色が赤から白へと変化するため、1 次スクリーニングが容易です。
- ◆ *HIS3* の発現を SD 選択培地での培養でスクリーニングできます。
- ◆ *lacZ* の発現を  $\beta$ -ガラクトシダーゼアッセイで検出します。
- ◆ 目的膜タンパク質の性質に適したベクターが含まれています。
- ◆ NubG (ユビキチン変異 N 末端領域) を融合させた cDNA ライブラリー (次ページ参照) を使用して、目的の膜内在性タンパク質と相互作用のあるタンパク質をスクリーニングできます。

### 原理



bait はユビキチン C 末端領域 (Cub) - 人工転写因子 (LexA-VP16) との融合タンパク質として、prey はユビキチン変異 N 末端領域 (NubG) との融合タンパク質として宿主酵母 (NMY51) で発現させます。bait と prey が相互作用すると Cub と NubG によりユビキチン (これを split-ubiquitin と呼ぶ) が再構成され、ユビキチン特異的プロテアーゼ (UBPs) によって Cub C 末端から LexA-VP16 が切り離されます。LexA-VP16 は核内に移行し、レポーター遺伝子である *ADE2*、*HIS3* および *lacZ* が発現されることにより、タンパク質の相互作用を解析できます。

### ベクターの選択

本システムは bait の Cub-LexA-VP16 および prey の NubG が細胞質内に存在することで機能します。キットに含まれる各種ベクターから目的タンパク質の方向性に適したベクターを選択してご使用下さい。

### ■ 目的タンパク質の性質による bait ベクターの選択

#### N 末端シグナル配列を有する Type I 膜内在性タンパク質

例: レセプターチロシンキナーゼ、細胞表面レセプター

方向性	N 末端: 粗面小胞体内腔	C 末端: 細胞質内
ベクター	pBT3-SUC Type I bait vector	
Cub-LexA-VP16 の位置	目的タンパク質の C 末端	

*S. cerevisiae* インペルターゼ (SUC) 遺伝子由来の N 末端 Type I シグナル配列を目的タンパク質の N 末端に付加する。哺乳類シグナル配列は酵母では認識されにくいいため、目的タンパク質のシグナル配列を除いた cDNA をクローニングする。

#### N 末端シグナル配列をもたない Type I 膜内在性タンパク質

例: G タンパク質共役レセプター

方向性	N 末端: 粗面小胞体内腔	C 末端: 細胞質内
ベクター	pBT3-STE Type I bait vector	
Cub-LexA-VP16 の位置	目的タンパク質の C 末端	

*S. cerevisiae* Ste2 の N 末端 15 アミノ酸残基を目的タンパク質の N 末端に付加する。Ste2 の配列はシグナル配列としては機能せず、目的タンパク質の発現を増大させる。

#### Type II 膜内在性タンパク質

方向性	N 末端: 細胞質内	C 末端: 粗面小胞体内腔
ベクター	pBT3-N Type II bait vector	
Cub-LexA-VP16 の位置	目的タンパク質の N 末端	

#### *S. cerevisiae* 膜内在性タンパク質

方向性	N 末端: 粗面小胞体内腔	C 末端: 細胞質内
ベクター	pBT3-C Type I bait vector	
Cub-LexA-VP16 の位置	目的タンパク質の C 末端	

#### 可溶性タンパク質

局在	細胞質
----	-----

bait が 80 kDa 以上で核内移行シグナルを持たない場合のみ解析を期待できる。

※ prey についてもタンパク質の性質に対応した 4 種類のベクターが含まれています。またキットに含まれるベクター単独でのご購入も可能です。詳細は当社テクニカルサポート (欄外参照) までお問い合わせ下さい。

### キット内容

- pBT3-N bait vector
- pBT3-SUC bait vector
- pPR3-N prey/library vector
- pOst1-Nub I control prey
- pPR3-SUC prey/library vector
- pPR3-STE prey/library vector
- pTSU2-APP positive control bait
- pNubG-Fe65 positive control prey
- NMY51 yeast reporter strain
- HTX  $\beta$ -galactosidase assay kit
- pBT3-C bait vector
- pBT3-STE bait vector
- pPR3-C prey/library vector
- Y2H transformation kit

※ 酵母は凍結乾燥品で納品されますが、製品到着後直ちに YPAD プレートで培養し、保管して下さい。

## Y2H Membrane Pairwise Interaction Kit ご購入時のご注意

営利団体・企業にご所属の方が本製品 (#P01501DS) を購入される場合はライセンス契約の締結が必要となります。詳細は下記までお問い合わせ下さい。

受託・特注品業務担当

e-mail: [jutaku@funakoshi.co.jp](mailto:jutaku@funakoshi.co.jp)

Tel.: 03-5684-1645 Fax: 03-5684-6539

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格(¥)
New Y2H Membrane Pairwise Interaction Kit	MOB	P01501DS <span style="color: green;">カルタヘナ</span>	1 kit / 560,000
※受注発注品			

## Y2H Membrane Protein Kit

### 販売終了のご案内

Y2H Membrane Pairwise Interaction Kit (#P01501DS) の旧バージョン製品 Y2H Membrane Protein Kit (#P01001DS) については、販売終了とさせていただきます。#P01501DS をご使用下さい。

遺伝子機能解析  
タンパク質 相互作用

核または細胞質タンパク質の相互作用を解析するキット

## Y2H Transactivating Protein System

核または細胞質において転写活性や情報伝達に関わるタンパク質の相互作用を、*in vivo* で解析できる酵母 Two-Hybrid System (Y2H) です。キットに含まれる宿主酵母や原理は、前項の Membrane Pairwise Interaction Kit と同様です。

- 特長
- ◆ 目的とするタンパク質に相互作用するタンパク質の検出、相互作用領域の決定、cDNA ライブラリーからの結合タンパク質スクリーニングなどに有用です。
  - ◆ NubG を融合させた cDNA ライブラリー (右記参照) を使用して、目的のタンパク質と相互作用するタンパク質をスクリーニングできます。

- キット内容
- pDHB1 bait vector
  - pPR-N prey/library vector
  - pDHB1-largeT control bait vector
  - pDSL- Δ p53 control prey vector
  - pAl-alg5 functional control vector
  - NMY51 yeast reporter strain
- ※ 酵母は凍結乾燥品で納品されますが、製品到着後直ちに YPAD ブレートで培養し、保管して下さい。

### Y2H Transactivating Protein Kit

#### ご購入時のご注意

営利団体・企業にご所属の方が本製品 (#P01005DS) を購入される場合はライセンス契約の締結が必要となります。詳細は下記までお問い合わせ下さい。

受託・特注品業務担当

e-mail : [jutaku@funakoshi.co.jp](mailto:jutaku@funakoshi.co.jp)

Tel. : 03-5684-1645 Fax : 03-5684-6539

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格(¥)
Y2H Transactivating Protein System Kit	MOB	P01005DS <span style="color: green;">カルタヘナ</span>	1 kit / 365,000
※受注発注品			

■ Y2H Protein System cDNA Library

Y2H Protein System 用 cDNA ライブラリーです。Membrane Pairwise Interaction Kit と Transactivating Protein System のいずれにも使用可能です。

品名	メーカー	商品コード	包装 / 価格(¥)
Two-Hybrid cDNA Library, <i>Arabidopsis thaliana</i> , NubG-x, for Y2H Protein System	MOB	P02210DS	200 μg / 490,000
Two-Hybrid cDNA Library, HeLa Cell Line, NubG-x, for Y2H Protein System	MOB	P02212DS	200 μg / 490,000
Two-Hybrid cDNA Library, Human, Adult Brain, NubG-x, for Y2H Protein System	MOB	P02221DS	200 μg / 490,000
Two-Hybrid cDNA Library, Human, Adult Brain, x-NubG, for Y2H Protein System	MOB	P02227DS	200 μg / 490,000
Two-Hybrid cDNA Library, Human, Adult Colon, NubG-x, for Y2H Protein System	MOB	P02215DS	200 μg / 490,000
Two-Hybrid cDNA Library, Human, Adult Kidney, NubG-x, for Y2H Protein System	MOB	P02226DS	200 μg / 490,000
Two-Hybrid cDNA Library, Human, Adult Kidney, x-NubG, for Y2H Protein System	MOB	P02208DS	200 μg / 490,000
Two-Hybrid cDNA Library, Human, Adult Liver, NubG-x, for Y2H Protein System	MOB	P02220DS	200 μg / 490,000
Two-Hybrid cDNA Library, Human, Adult Lung, NubG-x, for Y2H Protein System	MOB	P02230DS	200 μg / 490,000
Two-Hybrid cDNA Library, Human, Embryonal Brain, NubG-x, for Y2H Protein System	MOB	P02213DS	200 μg / 490,000
Two-Hybrid cDNA Library, Jurkat T cell, Unstimulated, NubG-x, for Y2H Protein System	MOB	P02205DS	200 μg / 490,000
Two-Hybrid cDNA Library, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , NubG-x, for Y2H Protein System	MOB	P02237DS	200 μg / 490,000

※ 掲載品以外にも Y2H Protein System cDNA Library の取り扱いがあります。詳細は当社テクニカルサポート (欄外参照) までお問い合わせ下さい。

好評配布中!!

フナコシニュース専用バインダー

※ ほぼ 1 年分のフナコシニュースを綴じることができます。

※ ご希望の方は、フナコシホームページ (<http://www.funakoshi.co.jp/>) のオンライン請求か、当社営業担当 (Fax 03-5684-1634) までお申し込み下さい。