

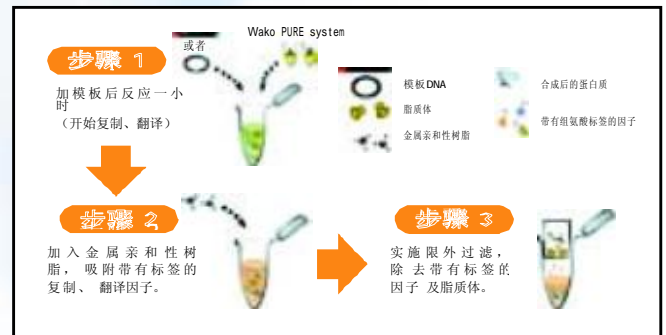
Wako体外蛋白质合成系统 WakoPURE system

WakoPURE system采用世界首创的再构成系无细胞蛋白质合成技术,对于复制、翻译及能量再生所需要的约30种因子进行调制、精制后,再加以重新构成。其中包括大肠菌的翻译因子--开始因子(IF1、IF2及IF3)、伸长因长(EF-G、EF-Tu及EF-Ts)、终结因子(RF1、RF2及RF3)、脂 质体循环因子,与20种氨基酸相对应的氨基酰tRNA合成酶、甲硫氨酸酰氨tRNA转移酶、T7 RNA聚合酶等。此外,还包括脂质体、氨基酸、 tRNA、能量源及能量再生系统。 对于上述构成因子(脂质体蛋白质除外),均添加了组氨酸标签。通过使用金属亲和树脂,使反应所需的因子与目标蛋白质之外的构成因子相结合,再通过限外过滤即可除去树脂结合因子与脂质体蛋白质。采用这种方法,可以在短时间内得到高纯度、无标签的目标蛋白质。

【特点】

- 通过逆反应用标签系统,使蛋白质的精制变得更容易。
- 使天然序列蛋白质的精制更容易。
- 由于是重组系,因此不含有杂质蛋白质。
- 从合成到精制结束只需要三个小时。
- RNase污染极少。

【操作方法】



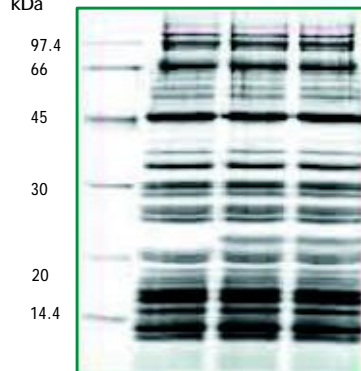
【扩大反应规模】

采用WakoPURE system,可以根据需要扩大反应规模。单个产品为50 μl。如使用多个产品,则可以实现蛋白质的大量合成。增加反应液并不会影响合成效率。

使用试剂盒中的二氢叶酸还原酶

(DHFR)对照剂,在37 ° C条件下进行DHFR合成反应一小时后,对每一道使用5 μl。然后进行SDS-PAGE,最后用SYPRO RED进行染色。

kDa 1 23



第一道: 分子量标识 第二道: 无转型DNA 第三道: 50 μl 反应液 (有模板DNA)



<50 μl 反应液> Wako PURE system
A溶液: 25 μl B溶液: 10 μl DHFR: 25 μl 无核酸酶水: 12.5 μl

第四道: 1000 μl 反应液 (有模板DNA)

<1000 μl 反应液>
A溶液: 500 μl B溶液: 200 μl DHFR: 50 μl 无核酸酶水: 250 μl

<四次用试剂盒>



- ▶ A溶液 25 μl × 4支
- ▶ B溶液 10 μl × 4支
- ▶ DHFR对照剂 5 μl × 1支
- ▶ 通用启发剂 80 μl × 1支
- ▶ 手册

<十六次用试剂盒>



- ▶ A溶液 25 μl × 16支
- ▶ B溶液 10 μl × 16支
- ▶ DHFR对照剂 5 μl × 1支
- ▶ 通用启发剂 80 μl × 1支
- ▶ 手册

【Q&A】

Q. 所用的模板需要什么条件?

A. WakoPURE system可用于PCR产物或者质粒。但是,模板需要具备下列序列(亦可以是RNA)。

- 开始密码子:(ATG)
- 终止密码子:(TAG、TGA或TAA三者之一)
- 在基因上流应有T7操纵子序列
- 在开始密码子的上流约10个碱基处应有脂质体结合部位(SD序列)
- 在终止密码子的下流应有6个碱基以上的序列(适用于PCR产物)
- 在终止密码子的下流应有复制终止子序列(适用于质粒DNA)

Q. 蛋白质合成量有多少?

A. 最大获取量为100 μg/ml。平均合成量为20~50 μg。

编号	品名	容量
299-59501	WakoPURE system	4次用
295-59503	(体外蛋白质合成试剂盒)	16次用

※本试剂盒只适用于蛋白质的合成(不包括精制试剂)。 I.K.