

重组无细胞蛋白合成系统

Reconstituted Cell-free Protein Synthesis System

PUREfrex[®]

PUREfrex[®] 试剂盒是在东京大学的Takuya Ueda教授所发明的PUREsystem* 技术基础上, 新开发的一款**重组无细胞蛋白合成试剂盒**。

该反应系统由蛋白、核糖体、氨基酸和、NTPs组成。进行蛋白表达仅需将编码目标蛋白的**模板DNA或mRNA**加入到反应体系中, 然后孵育**2-4小时**即可完成反应, 且无需担心高背景影响到下游应用。

本试剂盒是各组分经过纯化再重新组合而成, 而非直接从大肠杆菌中提取, **RNase、β-半乳糖苷酶以及脂多糖 (LPS)** 污染已受到严格控制。PUREfrex[®] 试剂盒中的**所有蛋白组分都不带标签**, 因此目的蛋白可融合任意标签进行纯化和检测。

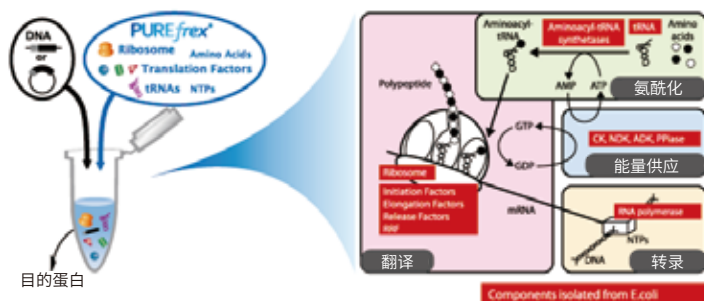
◆ 特点

- 可同时加入多种模板进行反应, 以合成Fab (带二硫键) 及多聚体等带二级结构的多肽
- 可合成活细胞难以合成的强毒性蛋白
- 可直接使用PCR产物作为模板DNA
- 单位体积内合成的蛋白量几乎恒定, 不随反应体积变化而产生显著差异
- 操作简便, 仅需在37°C孵育数小时
- 产品经优化升级, 合成量大大提高
- 可合成带标签的蛋白用于下游纯化和检测

*PURE System: Protein synthesis Using Recombinant Elements System

无细胞表达的优势

- 无需制备克隆
- 无需考虑培养条件
- 无需考虑表达所需的诱导条件
- 来源于宿主的污染少



使用PUREfrex[®] 系统进行蛋白合成

◆ 应用

- **制备蛋白**
 - 原核蛋白
 - 真核蛋白
 - 膜蛋白
 - 活性IgG^[1]
 - 含二硫键蛋白
 - 含有非天然氨基酸的蛋白
- **蛋白基础研究**
 - 蛋白间相互作用
 - 抗体高通量筛选
 - 蛋白二级结构研究
- **体外展示技术**
 - 核糖体展示技术
 - mRNA展示技术

◆ 参考文献 (部分)

- [1] Murakami, S, et al. (2019). Constructive approach for synthesis of a functional IgG using a reconstituted cell-free protein synthesis system. *Scientific Reports*, 9(1), 671. 成功合成了IgG1, IgG2和IgG4的活性形式; 抗HER2抗体曲妥珠单抗的峰值产量达124μg/mL。
- [2] Natan, E., et al. (2018). Cotranslational protein assembly imposes evolutionary constraints on homomeric proteins. *Nature structural & molecular biology*, 25(3), 279.
- [3] Kuruma, Y. & Ueda, T. (2016). Corrigendum: the pure system for the cell-free synthesis of membrane proteins. *Nature Protocols*, 11(3), 616.
- [4] Murakami, H., et al. (2006). A highly flexible tRNA acylation method for non-natural polypeptide synthesis. *Nature Methods*, 3(5), 357-359.

◆ 试剂盒组成

使用前请置于-80°C保存

试剂	体积	成分说明 ⁽³⁾ 可定制	保存温度
溶液 I (白盖)	125 μL	氨基酸, 核苷酸, tRNA和酶的底物等	-20°C
溶液 II (黑盖)	12.5 μL	蛋白, 保存于含30%甘油的缓冲液	-20°C or -80°C ⁽¹⁾
溶液 III (红盖)	12.5 μL×2	核糖体 (20 μM)	-80°C ⁽¹⁾
DHFR DNA (透明盖) ⁽²⁾	10 μL	对照DNA, 含有编码大肠杆菌DHFR基因的PCR产物 (20 ng/μL)	-20°C

(1) 剩余的溶液应快速在液氮、干冰或乙醇中冻结, 并保存于-80°C。必要时分装剩余溶液, 并尽可能避免反复冻融。

(2) 50 μL反应体系中加入2.5 μL DHFR DNA。

(3) 关于溶液 I、溶液 II和溶液 III, 可根据客户需求, 去除特定的成分, 出售可定制试剂盒。

◆ 添加剂

- ◆ **DS supplement** 加入本品能为**二硫键形成**创造最适的环境。含氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 和作为二硫键异构酶的大肠杆菌DsbC, 作为氧化剂创造氧化环境。
- ◆ **DnaK Mix** 是高度纯化的大肠杆菌来源的DnaK、DnaJ、GrpE蛋白以适当的浓度比例预混后的溶液。通过在单独的PUREfres[®]反应液或添加了DS supplement合成蛋白时添加DnaK Mix, 可以更易获得难以独自形成**高级结构**的活性蛋白。
- ◆ **GroE Mix** 是高度纯化后的大肠杆菌来源的GroEL、GroES蛋白以适当的浓度比例预混后的溶液。在PUREfres[®]反应液合成蛋白时添加GroE Mix, 可以更易获得难以独自形成**高级结构**的活性蛋白。

◆ 产品列表

产品编号	产品名称	规格	备注信息
GFK-PF201-0.25-EX	PUREfres [®] 2.0	1 kit	供250 μL反应使用
GFK-PF201-0.25-5-EX		1 kit	供250 μL×5次反应使用
GFK-PF213-0.25-EX	PUREfres [®] 2.1	1 kit	供250 μL反应使用
GFK-PF213-0.25-5-EX		1 kit	供250 μL×5次反应使用
GFK-PF003-0.5-EX	DnaK Mix	1 kit	供500 μL反应使用
GFK-PF004-0.5-EX	GroE Mix	1 kit	供500 μL反应使用
GFK-PF005-0.5-EX	DS supplement	1 kit	供500 μL反应使用

备注:

PUREfres[®] 已升级到2.0, 比第一代产品表达量更高, 污染物水平更低;

PUREfres[®] 2.1比2.0更适合二硫键的形成。

PUREfres[®] 定制试剂盒可按客户要求, 在PUREfres[®] 1.0或2.0配方基础上进行定制。

上述试剂仅供实验研究用, 不可用作“医药品”、“食品”、“临床诊断”等。



富士胶片和光(广州)贸易有限公司

广州市越秀区先烈中路69号东山广场30楼3002-3003室
 北京 Tel: 13611333218 上海 Tel: 021 62884751
 广州 Tel: 020 87326381 香港 Tel: 852 27999019
 询价: wkgz.info@fujifilm.com
 官网: labchem.fujifilm-wako.com.cn

官方微信

目录价查询

