



細胞内分子間相互作用の定量的検出系 NanoBRET[®], NanoBiT[®] テクノロジー

細胞内分子間相互作用は細胞内のシグナル経路の解明に不可欠です。その解析手法について、*in vitro*での解析方法は多くありますが、細胞内での解析法はあまり多くありません。本セミナーではPromega社より講師をお迎えし、細胞内での分子間相互作用解析法の一つとして、NanoLuc[®]ルシフェラーゼを利用したNanoBRET[®]およびNanoBiT[®]アッセイをご紹介します。皆様のご参加をお待ちしております。

日時：2016年9月9日（金） 15:00-17:00

定員：20名（先着順）

場所：医学部A棟 A102室

- ※ 当日は会場に直接お越しください。
- ※ 建物には必ず東側入口よりお入りください。

申込方法：メール。件名に「第173回説明会参加申込」、本文に職名又は学年・氏名・所属名（研究室名等）を明記の上、下記アドレス宛にお送りください。


※ 医科学修士の方は「平成28年度医学研究技術実習」受講時間認定希望の有無も記載してください。

〆切：2016年9月8日（木） 17:00




=== 説明会・機器利用に関する連絡・問い合わせ先 ===
京都大学大学院医学研究科 医学研究支援センター（総合解剖センター4階東側）
メール：info@support-center.med.kyoto-u.ac.jp
URL：<http://support-center.med.kyoto-u.ac.jp/SupportCenter>


この説明会は「平成28年度
医学研究技術実習」
受講時間にカウントされます
受講時間：2時間



案内
HP



連絡用
メール
アドレス





細胞内分子間相互作用の定量的検出系 NanoBRET[®], NanoBiT[®] テクノロジー

細胞内分子間相互作用は細胞内のシグナル経路の解明に不可欠です。その解析手法について、*in vitro*での解析方法は多くありますが、細胞内での解析法はあまり多くありません。このセミナーでは、細胞内での分子間相互作用解析法として、非常に明るい NanoLuc[®]ルシフェラーゼを利用した NanoBRET[®]および NanoBiT[®]アッセイをご紹介します。

NanoBRET[®] は NanoLuc[®]ルシフェラーゼと HaloTag-618 ligand を利用した BRET アッセイシステムで、生細胞内で起こるタンパク質間相互作用 (PPI) を高感度に発光検出することができます。NanoBRET[®] システムでは標的タンパク質と NanoLuc[®]または HaloTag[®]融合タンパク質を発現させ、標的タンパク質の結合を本来の細胞内環境下で可逆的に、また感度、再現性高く検出します。従来の BRET アッセイより高感度であり、蛍光ベースの FRET より定量性に優れたアッセイ法です。

また NanoBRET[®] はタンパク質間だけではなく、タンパク質-化合物の相互作用解析にも使用できます。HaloTag-618 ligand に使用している蛍光化合物で標的タンパク質に結合するプローブ化合物を標識することにより、標的タンパク質とプローブ化合物の結合様式を解析する、また標的タンパク質とプローブ化合物の結合を阻害する化合物の探索などが可能です。

NanoBiT[®] (NanoLuc[®] Binary Technology) は NanoLuc[®]ルシフェラーゼをベースにした 2 サブユニットシステムで、生細胞内でのタンパク質間相互作用だけでなくペプチド-タンパク質間相互作用も高感度に発光検出することができます。NanoBiT[®] システムは Large BiT (LgBiT; 18kDa) および Small BiT (SmBiT; 11 アミノ酸から成るペプチド) の小さな 2 つのサブユニットで構成されています。LgBiT や SmBiT と融合させた標的タンパク質が相互作用することにより、LgBiT と SmBiT サブユニットが結合して発光します。他の多くのスプリットシステムと異なり NanoBiT[®] は可逆的で速やかに解離すること、また細胞透過性のある発光基質 furimazine を使用することから、リアルタイムでの細胞内 PPI 検出に非常に適しています。

本セミナーでは NanoBRET[®]、NanoBiT[®]を利用した細胞内の PPI 検出例に加え、系構築やアッセイ上の注意点など具体的なポイントも合わせてご紹介致します。

あらかじめご連絡いただければ、
セミナー終了後、アッセイ系構築のコンサルテーションを行います。

<コンサルテーションに関する連絡先>
プロメガ株式会社 テクニカルサービス部 桃井宛
Michiko.momoi@promega.com