



Matchmaker™ Gold Yeast Two-Hybrid System



タンパク質間相互作用解析システム



タンパク質-タンパク質間、タンパク質-DNA間の相互作用解析には Matchmaker™ Goldシステムが最適です!

Matchmaker™ Gold

Yeast Two-Hybrid / One-Hybrid 関連製品 購入ガイド

タンパク質 - タンパク質間 相互作用解析

Matchmaker™ Gold Yeast Two-Hybrid System

既知のタンパク質間相互作用の確認や解析

目的タンパク質に相互作用する未知タンパク質の探索

preyライブラリーを購入して使用する

preyライブラリーを自作する

タンパク質 - DNA間 相互作用解析

Matchmaker™ Gold Yeast One-Hybrid Library Screening System

酵母ハイブリッドシステムの原理

酵母ハイブリッドシステムは、出芽酵母の転写活性化因子GAL4を利用したタンパク質相互作用解析システムです。

酵母ツーハイブリッドシステムでは、GAL4応答性プロモーターの下流にレポーター遺伝子をもつ酵母宿主株に、GAL4 DNA-BD(DNA結合ドメイン)を融合したbait(おとり)の発現プラスミドと、GAL4 AD(転写活性化ドメイン)を融合したprey(獲物:ライブラリー)の発現プラスミドを導入します。酵母中で融合発現したbaitとpreyが相互作用すると、GAL4転写活性が再構成され、レポーター遺伝子が発現します。レポーター遺伝子の発現を選択培地ででの生育やレポーター活性により検出し、タンパク質-タンパク質間相互作用を解析します。

酵母ワンハイブリッドシステムでは、GAL4 ADを融合したpreyタンパク質とレポーター遺伝子の下流に組み込んだbait DNA配列(標的DNA)が相互作用するとレポーター遺伝子の発現が起こり、選択培地で生育可能となります。

酵母ハイブリッドシステムの利点

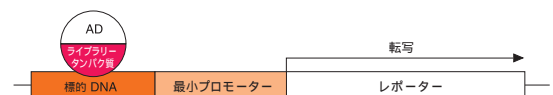
- ・多検体アッセイが可能
- ・タンパク質精製を必要としない
- ・真核生物である酵母の中でアッセイが行える
- ・高価な実験器具を必要としない

Two Hybrid 相互作用解析の概要



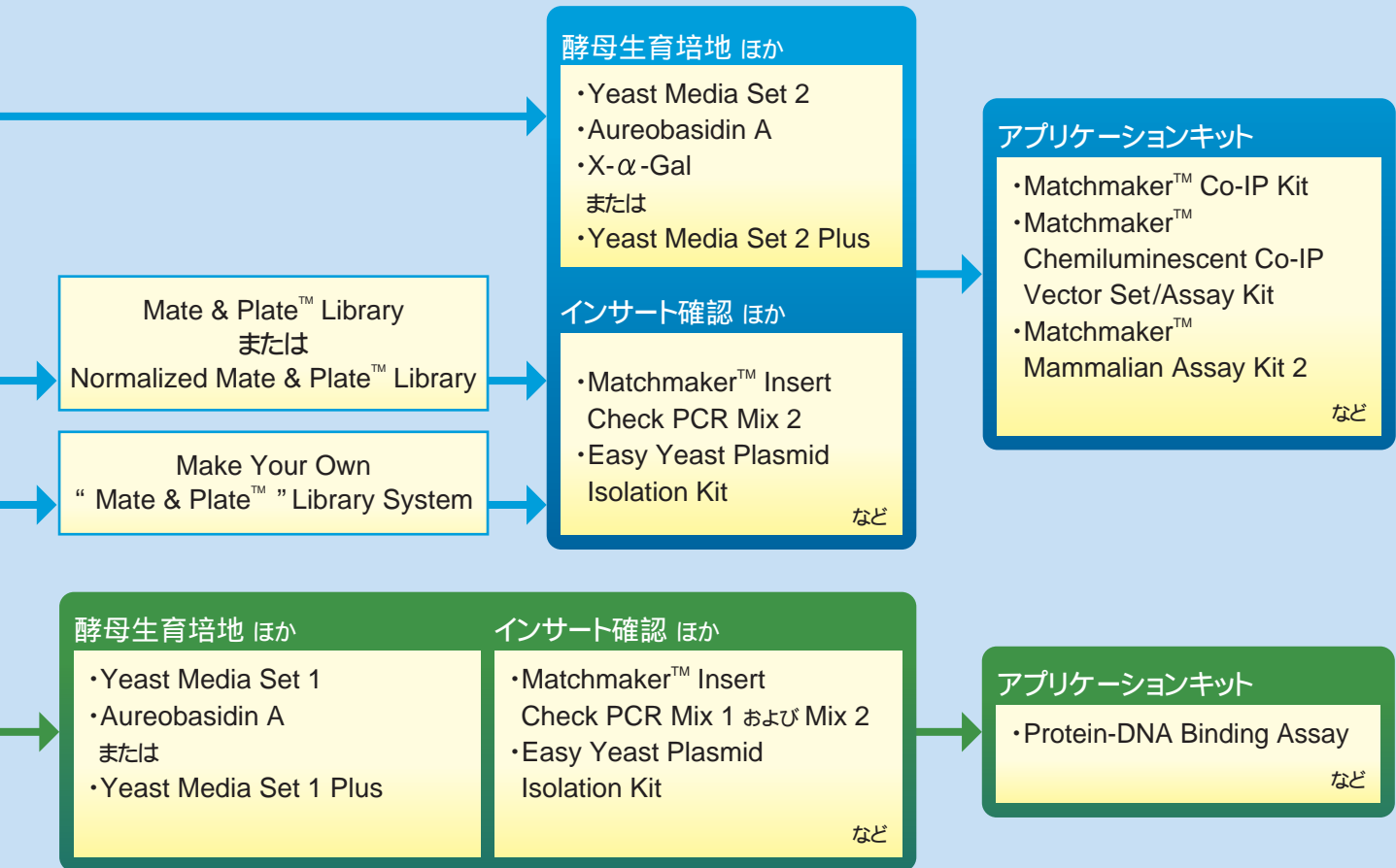
prey(獲物:ライブラリー)タンパク質がbait(おとり)タンパク質と相互作用すると、プロモーターの下流に存在するレポーター遺伝子が発現し、宿主株は選択培地で生育可能となる。

One Hybrid 相互作用解析の概要



prey(獲物:ライブラリー)タンパク質がbait(おとり)DNA配列(標的DNA)と相互作用すると、プロモーターの下流に存在するレポーター遺伝子が発現し、宿主株は選択培地で生育可能となる。

新しくなったClontechのMatchmaker™ Goldシステムは、抗真菌抗生物質Aureobasidin A (AbA : オーレオバシジンA)に対する耐性遺伝子を新規レポーター遺伝子に採用することで、偽陽性クローンの出現を大幅に低減し、真の陽性クローンの取得をより確実にできるようになりました。



充実した関連製品

より簡便に、より迅速に相互作用解析を行うために、ClontechではMatchmaker™ Goldシステムのための各種関連製品をご用意しています。

Mate & Plate™ Library シリーズ

すぐに使用できる酵母Y187株(接合型MAT α)形質転換済みのツーハイブリッド解析用cDNAライブラリーです。Mate & Plate™ライブラリーと、baitタンパク質を発現する酵母Y2HGOLD株(接合型MATa)を共培養して接合せ、選択培地に蒔くだけで簡単に相互作用スクリーニングを開始できます。

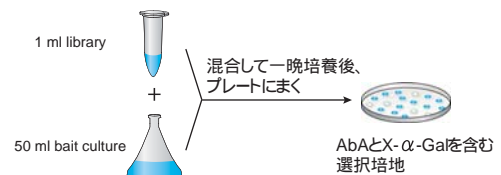
Make Your Own "Mate & Plate™" Library System

酵母Y187株にオリジナルのライブラリーを構築します。SMART法を利用してcDNA合成を行い、出芽酵母が持つ効率的な相同組換え反応を利用して、Y187株内で直接ライブラリー構築を行うため、高品質なpreyライブラリーを短時間で構築可能です。

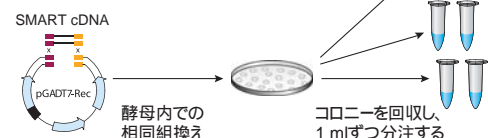
Yeast Media Set(酵母生育培地)

スクリーニングに必要な液体培地、および寒天培地を作製するための8種類の酵母用プレミックス培地のセットです。

"Mate & Plate"プロトコールによる接合スクリーニングの概要



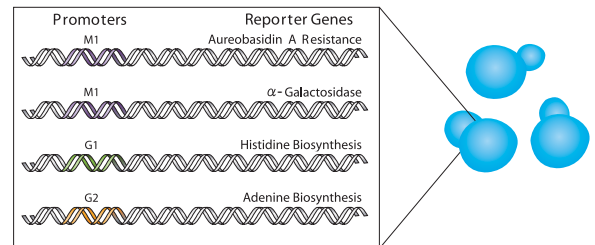
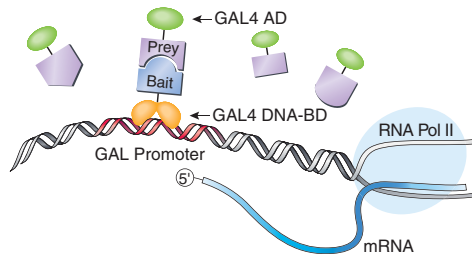
Make Your Own "Mate & Plate" Library Systemの概要



Matchmaker™ Gold Yeast Two-Hybrid System

製品コード 630489

- 新たにAureobasidin A耐性遺伝子 (*AUR1-C*) をレポーターに採用し、偽陽性クローンの出現を大幅に低減
- 薬剤耐性、栄養要求性、青白判定により簡便かつ厳密なスクリーニングを実現



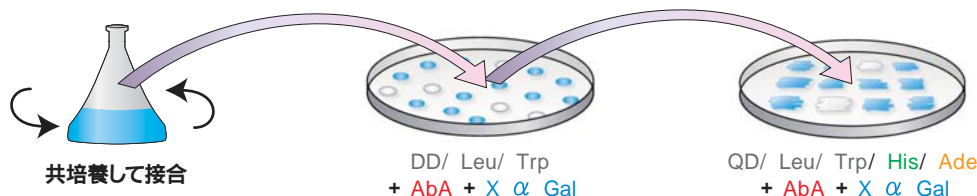
酵母ツーハイブリッドシステムの原理

ライブラリー由来のpreyタンパク質 (GAL4 ADと融合して発現) が、baitタンパク質 (GAL4 DNA-BDと融合して発現) と相互作用し、レポーター遺伝子の転写を活性化させる。

スクリーニング用のライブラリーは別途購入あるいは構築してください。

偽陽性クローン出現を低減させる4つのレポーター遺伝子

preyタンパク質とbaitタンパク質が相互作用すると、Y2HGold 酵母株のゲノム中にコードされた3種類の GAL4 応答性プロモーター (M1、G1、G2) 制御下の4種類のレポーター遺伝子 (*AUR1-C*、*MEL1*、*HIS3*、*ADE2*) の転写が活性化される。 M1 = MEL1、G1 = GAL1、G2 = GAL2



Matchmaker™ Gold ツーハイブリッドスクリーニングの手順

酵母Y187株に形質転換済みのpreyライブラリー (Mate & Plate Library、またはY187株中に自作したオリジナルライブラリー) とbaitタンパク質を発現するY2HGold株を共培養して接合後、まず2つのレポーターで1次スクリーニングを行います [*AUR1 C* 遺伝子発現によるAbA添加培地での生育と *MEL1* 遺伝子発現による $X \alpha$ Gal の分解 (青色呈色)]。得られた陽性クローン候補をさらに4種類のレポーターを利用してスクリーニングすることで、より確実に陽性クローンが得られます。1次スクリーニングの段階で、*AUR1 C* 遺伝子の発現が見られないクローンは死滅するため、偽陽性クローンの出現は効果的に低減できます。

タンパク質 - DNA間相互作用解析&スクリーニングキット

Matchmaker™ Gold Yeast One-Hybrid Library Screening System

製品コード 630491

- ライブラリー構築とスクリーニングをワンステップで!

bait DNA配列 (標的 DNA) を、1 ~ 3個のタンデムリピートとしてpAbAiベクターにクローニングする。

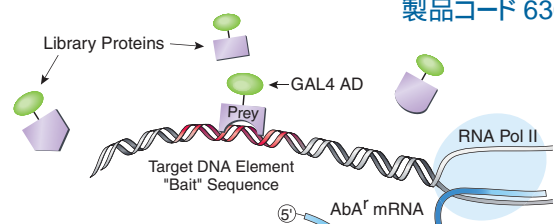
上記コンストラクトを線状化し、酵母Y1HGold株のゲノムに組み込む (*URA3* 遺伝子座を利用)。

Insert Check PCR Mix 1を用いたコロニーPCRで、bait DNA配列の酵母ゲノムへの組み込みを確認する。

線状化済みpGADT7 Recベクターの末端と相同な末端配列をもつcDNAを合成する。

調製したcDNAプールを、線状化pGADT7 Recベクターとともに構築した酵母Y1HGold [Bait] 株にトランスフェクトしてライブラリーを作製し、同時にAbA選択培地でスクリーニングを行う。

本システムではSMART法を用いて、末端にpGADT7-Recベクター (prey発現用) の末端と相同な配列を持つcDNAプールを作製し、線状化pGADT7-Recとともに酵母Y1HGold [Bait] 株にトランスフェクトします。酵母内での相同組換え反応を利用することで酵母ライブラリーの構築とスクリーニングをワンステップで行うことができます。



ワンハイブリッドシステムによるタンパク質-DNA間相互作用の検出



SMART法と酵母内での相同組換え反応を利用したライブラリー構築とスクリーニング

Matchmaker™ Goldシステムのための酵母生育培地各種

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
Two-Hybrid用 酵母生育培地パウチセット			
Yeast Media Set 2	1 Set	630494	¥38,000
Yeast Media Set 2 Plus	1 Set	630495	¥77,000
One-Hybrid用 酵母生育培地パウチセット			
Yeast Media Set 1	1 Set	630492	¥35,000
Yeast Media Set 1 Plus	1 Set	630493	¥58,000
酵母生育培地パウチタイプ			
YPDA Broth	10 packs	630306	¥15,000
YPDA with Agar	10 packs	630307	¥18,000
酵母生育培地パウチタイプ(Single Dropout培地)			
SD/-Trp Broth	10 packs	630308	¥15,000
SD/-Trp with Agar	10 packs	630309	¥23,000
SD/-Leu Broth	10 packs	630310	¥15,000
SD/-Leu with Agar	10 packs	630311	¥23,000
SD/-His Broth	10 packs	630312	¥15,000
SD/-His with Agar	10 packs	630313	¥23,000
SD/-Ura Broth	10 packs	630314	¥15,000
SD/-Ura with Agar	10 packs	630315	¥23,000
酵母生育培地パウチタイプ(Double Dropout培地)			
SD/-Leu/-Trp Broth	10 packs	630316	¥15,000
SD/-Leu/-Trp with Agar	10 packs	630317	¥23,000

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
酵母生育培地パウチタイプ(Triple Dropout培地)			
SD/ His/ Leu/ Trp Broth	10 packs	630318	¥15,000
SD/ His/ Leu/ Trp with Agar	10 packs	630319	¥23,000
SD/ Leu/ Trp/ Ura Broth	10 packs	630320	¥15,000
SD/ Leu/ Trp/ Ura with Agar	10 packs	630321	¥23,000
酵母生育培地パウチタイプ(Quadruple Dropout培地)			
SD/ Ade/ His/ Leu/ Trp Broth	10 packs	630322	¥15,000
SD/ Ade/ His/ Leu/ Trp with Agar	10 packs	630323	¥23,000
SD/ His/ Leu/ Trp/ Ura Broth	10 packs	630324	¥15,000
SD/ His/ Leu/ Trp/ Ura with Agar	10 packs	630325	¥23,000



Ready To Useのプレミックスタイプ酵母生育培地パウチ

水(ddH₂O)に溶解してオートクレーブするだけですぐに使用することができる酵母プレミックス培地の調製済み小袋(パウチ)です。面倒な試薬の計量や混合、また使用する水が顕著な酸性でなければpHを調整する必要もありません。

Matchmaker™ システム関連製品

製品名	概要	容量	製品コード	価格(税別)	
相互作用の確認に					
Matchmaker™ Co-IP Kit	共免疫沈降法によりタンパク質間相互作用を <i>in vitro</i> で確認	20回	630449	¥72,000	(終売)
Matchmaker™ Chemiluminescent Co-IP Vector Set	共免疫沈降法によりタンパク質間相互作用を定量的に検出(検出には化学発光を利用)。Vector SetとAssay Kitのほか、ProLabel Detection Kit II (製品コード 631629)が必要。	1 Set	630458	¥65,000	ラ普
Matchmaker™ Chemiluminescent Co-IP Assay Kit		24回	630459	¥86,000	
Matchmaker™ Mammalian Assay Kit (SEAPアッセイ)	哺乳類細胞におけるタンパク質-タンパク質間相互作用を確認	1 Set	630305	¥108,000	
pCMV-Myc & pCMV-HA Vector Set	Two-Hybrid Systemで同定したタンパク質相互作用の哺乳類細胞内での確認	1 Set	631604	¥80,000	
Protein-DNA Binding Assay	タンパク質-DNA間相互作用を定量的に検出	70回	630460	¥166,000	

製品名	概要	容量	製品コード	価格(税別)
酵母ツーハイブリッドシステムとの併用で3種類のタンパク質が関与する相互作用を解析				
pBridge Vector	GAL4ベースのツーハイブリッドシステムと組み合わせて、3種類のタンパク質が係る複雑な相互作用を解析	20 µg	630404	¥95,000
酵母プラスミド精製、形質転換、コロニーPCR				
Easy Yeast Plasmid Isolation Kit	酵母プラスミド精製キット	50回	630467	¥29,000
Yeastmaker™ Yeast Transformation System 2	酵母のプラスミド形質転換、およびライブラリースケールの形質転換	1 Set	630439	¥66,000
Yeastmaker™ Carrier DNA		1 ml × 5	630440	¥62,000
Matchmaker™ Insert Check PCR Mix 1	One-Hybridシステムでbait DNA配列のゲノムへの挿入をコロニーPCRで確認	100回	630496	¥23,000
Matchmaker™ Insert Check PCR Mix 2	コロニーPCRにより陽性クローンのGAL4 ADベクターインサートを確認	100回	630497	¥23,000
Matchmaker™ AD LD-Insert Screening Amplimer Set	GAL4 ADベクターインサート確認用プライマーセット	100回	630433	¥76,000

抗生物質、呈色基質、抗体				
Aureobasidin A	抗真菌抗生物質	1 mg	630466	¥20,000
		25 mg	630407	¥28,000
X-α-Gal	呈色基質	100 mg	630462	¥39,000
		250 mg	630463	¥56,000
GAL4 AD Monoclonal Antibody	Matchmakerモノクローナル抗体	20 µg	630402	¥71,000
GAL4 DNA-BD Monoclonal Antibody		25 µg	630403	¥71,000

Matchmaker™ Gold酵母ハイブリッドシステム

製品名	概要	容量	製品コード	価格(税別)
Matchmaker™ Gold Yeast Two-Hybrid System	タンパク質-タンパク質間相互作用解析用基本キット。 ツーハイブリッドスクリーニングを行う際には、下記の酵母形質転換済み Mate & Plateライブラリーをご利用ください。目的のライブラリーがない場合には、Make Your Own™ Mate & Plate™ Library Systemを用いて、オリジナルのライブラリーを酵母株中に作製してください。	1 Set	630489	¥127,000
Matchmaker™ Gold Yeast One-Hybrid Library Screening System	タンパク質-DNA間相互作用の解析およびスクリーニングに使用。 ツーハイブリッドシステム同様、AbA耐性遺伝子をレポーターに採用することで偽陽性クロンの出現が大幅に低減しています。	1 Set	630491	¥213,000

下記リストおよび4ページのリストの マークの製品はMatchmaker Gold Yeast Two Hybrid Systemと、また マークの製品はMatchmaker Gold Yeast One Hybrid Library Screening Systemと併用して、あるいはそれぞれの後解析での使用にお勧めの製品です。

Matchmaker™ Gold酵母ツーハイブリッドシステム用ライブラリーシステム

酵母形質転換済みMatchmaker™ cDNAライブラリー

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
Mate & Plate™ ライブラリーシリーズ			
Mate & Plate™ Library Human Liver	1 ml × 5	630468	¥163,000
Mate & Plate™ Library Human Fetal Brain	1 ml × 5	630469	¥163,000
Mate & Plate™ Library Human Testis	1 ml × 5	630470	¥163,000
Mate & Plate™ Library Human Heart	1 ml × 5	630471	¥163,000
Mate & Plate™ Library Human Skeletal Muscle	1 ml × 5	630473	¥163,000
Mate & Plate™ Library Human Ovary	1 ml × 5	630474	¥163,000
Mate & Plate™ Library Human Bone Marrow	1 ml × 5	630477	¥163,000
Mate & Plate™ Library Mouse Embryo 17 day	1 ml × 5	630476	¥163,000
Mate & Plate™ Library Mouse Embryo 11 day	1 ml × 5	630478	¥163,000
Mate & Plate™ ライブラリーシリーズ(Normalized)			
Mate & Plate™ Library HeLa S3(Normalized)	1 ml × 5	630479	¥163,000
Mate & Plate™ Library Human Brain(Normalized)	1 ml × 5	630486	¥163,000
Mate & Plate™ Library Universal Human(Normalized)	1 ml × 5	630480	¥163,000
Mate & Plate™ Library Mouse Embryonic Stem Cell(Normalized)	1 ml × 5	630484	¥163,000
Mate & Plate™ Library Mouse Brain(Normalized)	1 ml × 5	630488	¥163,000
Mate & Plate™ Library Universal Mouse(Normalized)	1 ml × 5	630483	¥163,000
Mate & Plate™ Library Universal Drosophila(Normalized)	1 ml × 5	630485	¥163,000
Mate & Plate™ Library Universal Arabidopsis(Normalized)	1 ml × 5	630487	¥163,000

注意: 大腸菌に導入した形状で供給される旧Matchmaker cDNAライブラリーシリーズを、Matchmaker Gold Yeast Two Hybrid Systemでのスクリーニングに用いる場合は、ライブラリーを増幅した後、酵母に形質転換してご使用ください。
(製品リストはクローンテックウェブカタログをご覧ください。)

オリジナルのMatchmaker™ cDNAライブラリーを酵母Y187株中に作製

製品名	概要	容量	製品コード	価格(税別)
Make Your Own™ Mate & Plate™ Library System	SMART法を利用してcDNAプールを調製し、相同組換えを利用して酵母Y187株にオリジナルのライブラリーを作製	5回	630490	¥197,000

ご購入に際してライセンス確認書が必要となります。

営利施設の場合、ご購入前にライセンス(有償)を取得する必要があります。

- 本パンフレットで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- 本パンフレットの内容の一部または全部を無断で転載あるいは複製することはご遠慮ください。
- 本パンフレット記載の価格は2010年6月1日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。
- 本パンフレットに記載されている商品名等は、特に記載はなくても各社の商標、または登録商標です。
- 各製品のLicense Statementsについてはクローンテックホームページをご覧ください。

販売元

タカラバイオ株式会社

東日本販売課 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282
西日本販売課 TEL 077-543-7297 FAX 077-543-7293

TaKaRa テクニカルサポートライン

製品の技術的なご質問に専門の係がお応えします。

TEL 077-543-6116 FAX 077-543-1977

クローンテックウェブサイト <http://clontech.takara-bio.co.jp>

タカラバイオウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>

製造元

Clontech

取扱店