

植物関連製品ガイド



植物分野の研究を
強力にサポート

形質転換用ベクター

外来遺伝子の高発現を実現する新しい植物形質転換用ベクター

pRI 101 DNA シリーズ

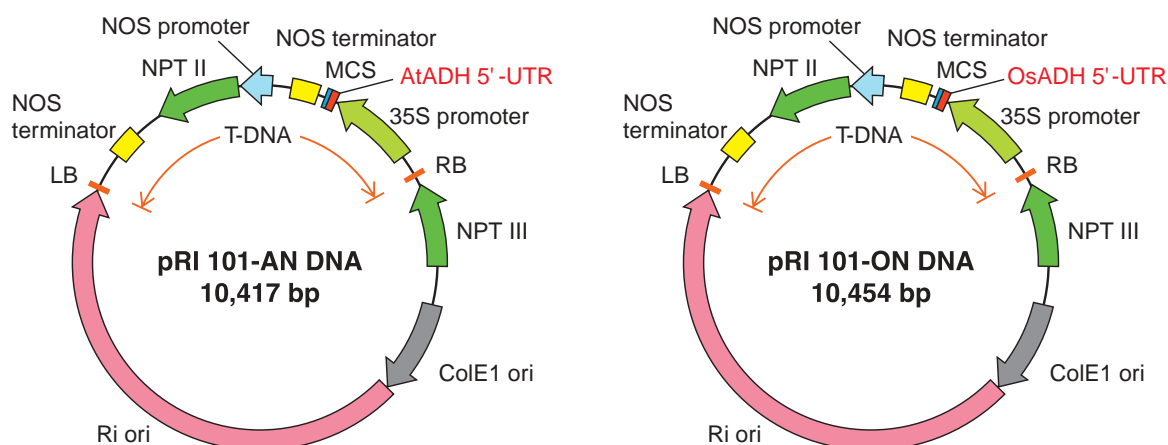
pRI 101 AN DNA	製品コード 3262	10 µg	¥50,000(税別)
pRI 101 ON DNA	製品コード 3263	10 µg	¥50,000(税別)

バイナリーベクター法により、アグロバクテリウムを介して効率的な植物の形質転換が可能
ADH(Alcohol Dehydrogenase)由来の5' 非翻訳領域(5' UTR)を搭載
上記領域の持つ翻訳エンハンサー機能により、植物体で目的遺伝子の高発現が可能
双子葉用(AN;シロイヌナズナ、タバコなど)と単子葉用(ON;イネなど)の2種類を用意
植物染色体DNAへの目的遺伝子の安定な組込みが可能
高コピー型大腸菌oriを有するため、大腸菌でのベクター構築 / プラスミド大量調製が容易

pRI 101 DNAシリーズは、*Agrobacterium rhizogenes* (*Rhizobium rhizogenes*)のRiプラスミドに由来し、*vir*領域は含まず、改変したRi oriおよびT DNA領域を含みます。本ベクターは、形質転換植物における外来遺伝子の高発現を目的としています。ADH由来の5'-UTRを搭載しており、当該領域の持つ翻訳エンハンサー機能により、植物体での目的遺伝子の高発現が期待できます。

シロイヌナズナADH由来5' UTR (AtADH 5' UTR)を搭載したpRI 101 AN DNA(製品コード 3262)と、イネADH由来5'-UTR (OsADH 5' UTR)を搭載したpRI 101 ON DNA(製品コード 3263)の2種類があります。双子葉植物にはpRI 101 AN DNAを、単子葉植物にはpRI 101 ON DNAをご使用ください。

ベクターマップ



- Ri ori : *Rhizobium*(*Agrobacterium*)での複製起点
- RB, LB : 植物体に組み込まれるT-DNAのボーダー配列
- NOS promoter, NOS terminator : 植物での遺伝子発現のためのプロモーター、ターミネーター
- NPT II : 植物での選択マーカー遺伝子(カナマイシン耐性)
- 35S promoter : 植物での遺伝子発現のためのプロモーター(CaMV由来)
- AtADH 5'-UTR, OsADH 5'-UTR : 翻訳エンハンサー領域
- ColE1 ori : 大腸菌での複製起点
- NPT III : 大腸菌および*Rhizobium*(*Agrobacterium*)での選択マーカー遺伝子(カナマイシン耐性)

本ベクターは、国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学より技術および試料の提供を受けて、タカラバイオ(株)が製品化したしました。

アプリケーションデータ

実施例 1: エンハンサー機能の確認

(pUC系ベクターを使用した一過性発現確認)

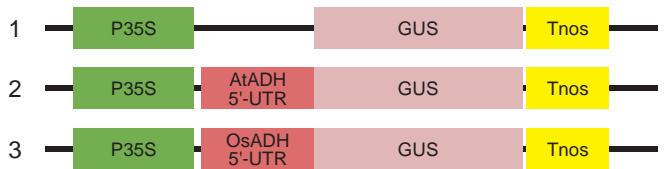
【方法】

タバコ培養細胞BY 2, シロイヌナズナ培養細胞T87およびイネ (*Oryza sativa*) のプロトプラストを調製し、エレクトロポレーション法により右図に示す グルクロニダーゼ (GUS) 遺伝子配列を持つプラスミドを導入した。

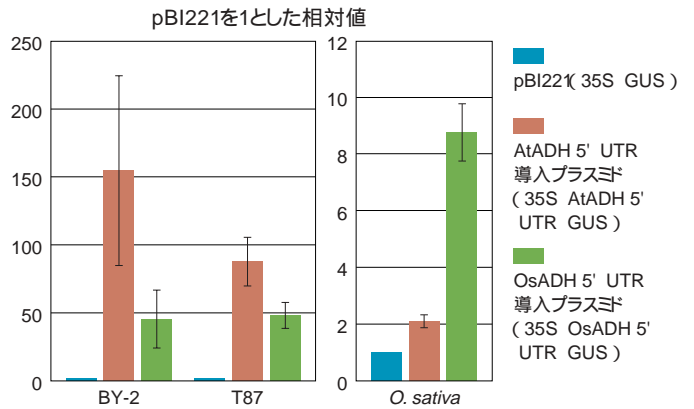
プラスミド導入後16~18時間培養してプロトプラストを破碎し、得られた抽出液中に含まれるGUS活性を測定した。GUS活性は、基質である4-メチルウンベリフェリル-D-グルクロニド (MUG) が分解されて生ずる4-メチルウンベリフェロン (4MU) 量を蛍光強度を指標にして測定した。

【結果】

5'非翻訳領域を付与したプラスミドを用いた場合、CaMV 35Sプロモーター単独の場合に比べて、数10倍以上のGUS活性を示しました。シロイヌナズナADH 5' UTR (AtADH 5' UTR) は、BY 2細胞、T87細胞で高い活性を示しましたが、イネではほとんど効果は見られませんでした。一方、イネADH 5' UTR (OsADH 5' UTR) は、BY 2細胞、T87細胞に加え、イネのプロトプラストでも効果を示しました。



1. pBI221 (35S GUS)
2. AtADH 5' UTR導入プラスミド (35S AtADH 5' UTR GUS)
3. OsADH 5' UTR導入プラスミド (35S OsADH 5' UTR GUS)



Kato, K., et al.: J. Bioscience and Bioengineering 105(3) 300-302 (2008) より引用

実施例 2: 植物における目的タンパク質の発現確認

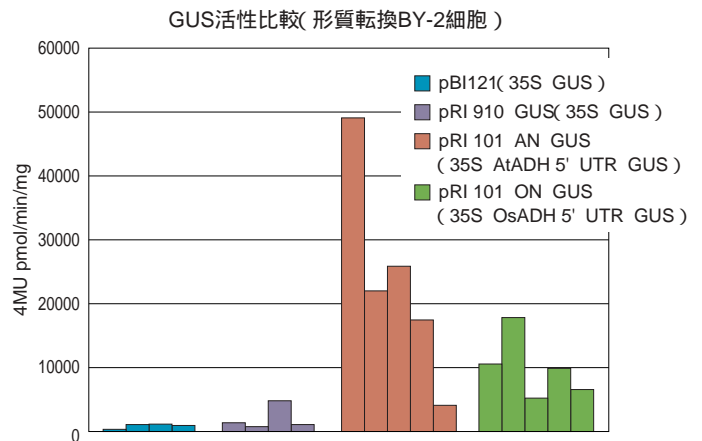
(バイナリーベクター使用)

【方法】

pRI 101 ANおよびpRI 101 ONに上記と同じようにGUS遺伝子を導入し、アグロバクテリウム法によりタバコ培養細胞BY 2を形質転換した。得られた形質転換体におけるGUS活性を実施例1と同様の方法で測定した。

【結果】

CaMV 35Sプロモーター単独のベクター (pBI121 および pRI 910 GUS) で形質転換した場合に比較して、ADH 5'-UTRを導入したベクターによる形質転換体では高いGUS活性を示すクローンが多数取得できました。



コンピテントセル

形質転換植物作製用アグロバクテリウムコンピテントセル

Agrobacterium tumefaciens LBA4404 Electro Cells

製品コード 9115 1 Set ¥29,000(税別)

本製品は、バイナリーベクター法に用いるベクターDNAをアグロバクテリウムの菌体内に導入するためのエレクトロポレーション用コンピテントセルです。得られた形質転換アグロバクテリウムは様々な植物の感染実験(形質転換実験)に使用できます。pRI 101 DNAシリーズやpRI 909/910 DNAと組み合わせてご使用ください。

製品内容

Agrobacterium tumefaciens LBA4404 Electro Cells 40 µl × 5本
pRI900 DNA (1 ng/µl) 10 µl
SOC 培地 1 ml × 10本

形質転換効率

> 5 × 10⁶/µg pRI900 DNA

total RNA抽出関連試薬

多糖類を多く含む植物からのtotal RNA調製用に、サンプルの前処理や後処理に使う補助試薬をご用意しています。抽出キットだけでは難しかった植物からのtotal RNA抽出や精製に効果を発揮します。使用する植物の種類や部位に合わせてご使用ください。

1 total RNA抽出補助試薬(前処理)

サンプルから多糖類などの夾雑物を除去するための前処理試薬

Fruit mate™ for RNA Purification

製品コード 9192 100 ml ¥9,500(税別)

植物サンプルから多糖類等の夾雑物を除去する試薬です。そのままではRNA抽出が難しいとされていた植物でも、本製品で処理した後に抽出キットで抽出を行えば、total RNAの収率が格段にアップします。

【効果があった植物(部位)】 ミントマト(果実)、バナナ(果肉)、トマト(種子)、米(種子)、ジャガイモ(根茎)、アロエ(葉)
みかん(皮)、松(葉)、イチゴ(果肉)、マンゴー(果実)、シロイロナズナ(種子)

植物の部位によっては改善効果が見られなかったり、むしろ収率が落ちる場合もあります。また、多糖類含有量が高くない部位では、通常、改善効果は見られません。

2 total RNA抽出補助試薬(後処理)

抽出したRNA溶液から多糖類を除去するための後処理試薬

High Salt Solution for Precipitation (Plant)

製品コード 9193 50 ml ¥4,500(税別)

抽出したtotal RNA溶液に本製品とイソプロパノールを加えて遠心操作を行うだけで、残存する多糖類などの夾雑物が除去でき、高純度total RNAを調製できます。

低分子RNAは回収率が低いいため、使用目的に応じてご利用ください。

3 total RNA抽出試薬

高純度RNAを調製可能なスピカラムタイプキット

NucleoSpin® RNA Plant

製品コード 740949.50 50回 ¥39,000(税別)

AGPC法ベースのtotal RNA抽出試薬

RNAiso Plus

製品コード 9108/9109 100 ml/200 ml ¥17,000/¥29,000(税別)

抽出原理の異なる2種類の抽出試薬をご用意しています。実験の目的に合わせて最適な試薬をお選びください。多糖類やポリフェノール類を多く含まない植物の場合は、これら製品の単独での使用をお勧めします。

ゲノムDNA抽出試薬

高品質ゲノムDNAの調製が可能なスピカラムタイプキット

NucleoSpin® Plant II

製品コード 740770.50 50回 ¥23,700(税別)

動物組織、培養細胞からの抽出キットですが、植物組織にもご利用いただけ、迅速・簡便な抽出が可能です。

・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2008年12月8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。

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

Website <http://www.takara-bio.co.jp>

取扱店