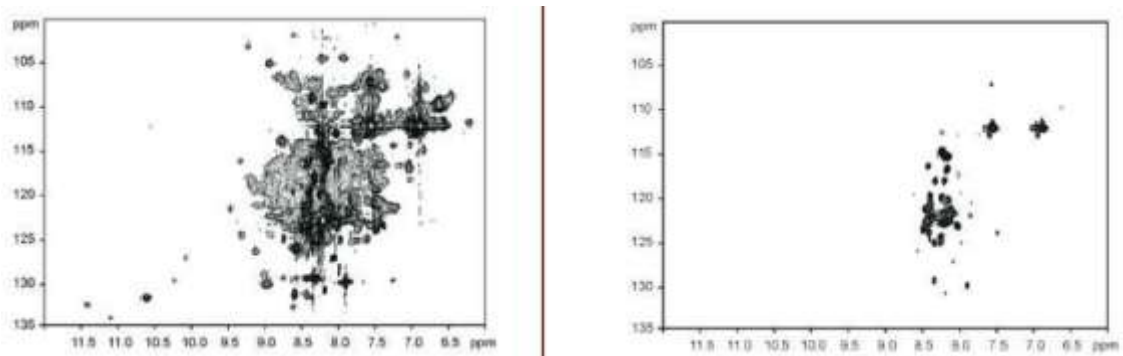




BioExpress 6000

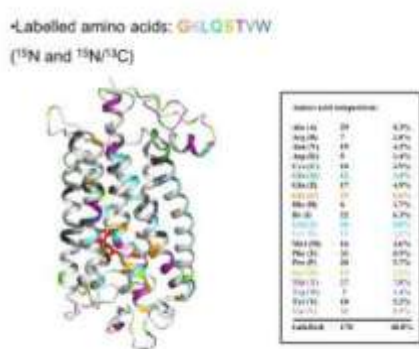
哺乳類細胞増殖培地

CIL はフランクフルトのゲーテ大学の Harald Schwalbe, Karla Werner, Judith Klein-Seetharaman 教授と協力して得られた ^{15}N または $^{13}\text{C};^{15}\text{N}$ rhodopsin についての最近の NMR 結果を発表できて喜んでます。Gly, Lys, Leu, Gln, Ser, Thr, Val, Trp を ^{15}N か $^{13}\text{C};^{15}\text{N}$ で標識した CIL の培地は、HEK293 哺乳類細胞システムから rhodopsin を発現するために用いられました。

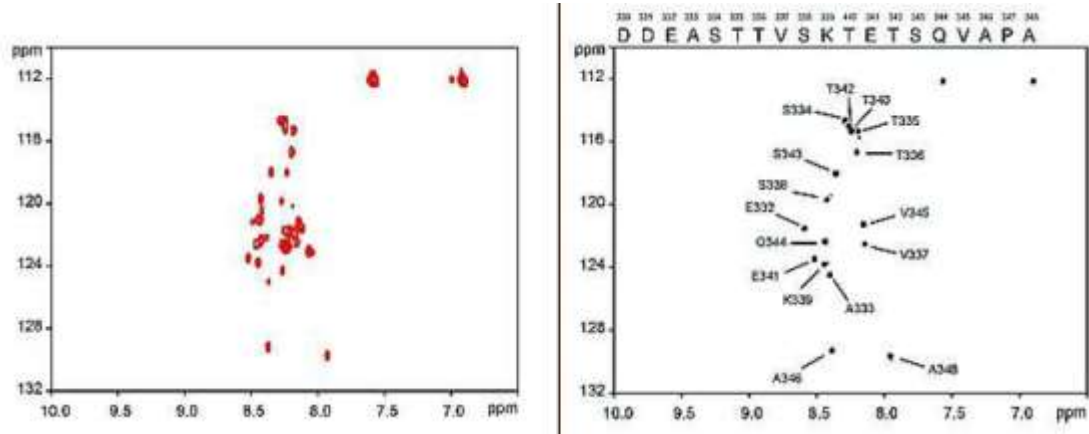


$^1\text{H};^{15}\text{N}$ HSQC スペクトルは、CIL の ^{15}N 標識培地で発現した rhodopsin $200\ \mu\text{M}$ を異なった閾値でプロットしたものです。

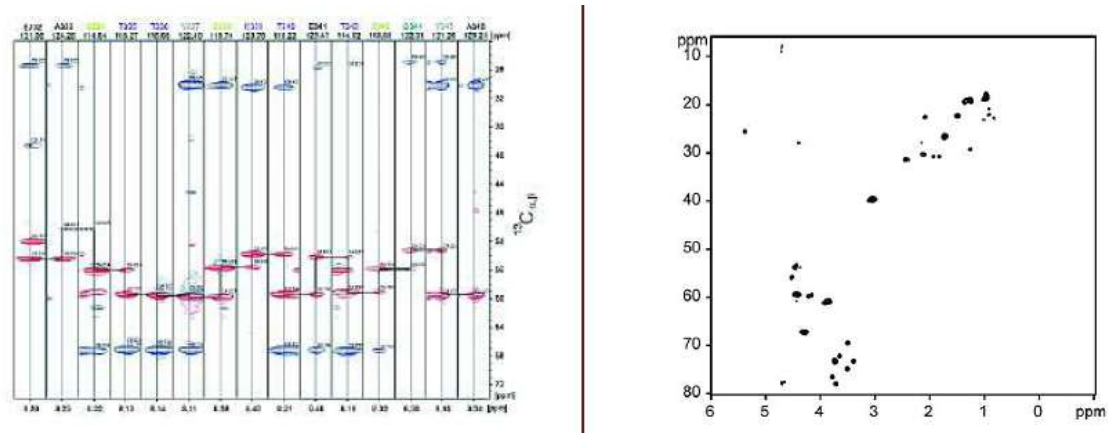
トリプトファン側鎖信号は明らかに見えます、そして、タンパクはその自然な構造に折り曲げられています。観察された幅広いピークは、大きな膜タンパクのためと予想されます。また、柔軟な C 末端に起因すると思われるいくつかの非常に鋭くて激しいピークも観察されます。



このグラフは、違った標識がなされた CIL の培地での培養の ml 当たりの生細胞の数を表しています。細胞は 3 日または 4 日で誘導されて、2 日後に収集された。細胞密度の違いは、ここまでではわかりません。タンパク生産高は、すべてのケースでおよそ 2.2mg/l 細胞培養です。



rhodopsin の鋭い共鳴のいくつかが C 末端を起源とするかどうかを証明するために、rhodopsin の最後の 19 個のアミノ酸を代表しているペプチドが合成されて、測定されて、割り当てられた (右のスペクトル)。rhodopsin HSQC (左のスペクトル) は、観察されたピークの多くで、非常に類似した化学シフトを示しています。さらにこの結果を確かめるために、rhodopsin 自体の C 末端が、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 標識タンパクの HNCACB を実行することにより割り当てられた (下記)。



HNCACB スペクトルから抽出される残基 A346 への残基 E332 の細片プロットは、 $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 標識 rhodopsin 上で動きます。

各々の細片は、重要な残基と優先する残基の CA と CB の共鳴を示します。水平な線は垂直線が 1 つの細片の中で i ピークと i-1 ピークをつないでいる間、i と i-1 細片の間のある残基の細片をつなぎます。CA 共鳴だけがつながれます。点線は期待される信号を示していますが、同位体標識されていないようには見えません。

^{13}C の ^{13}C HSQC スペクトル; ^{15}N 標識 rhodopsin は、スペクトルのより柔軟な領域のためにより鋭いピークを示しています。