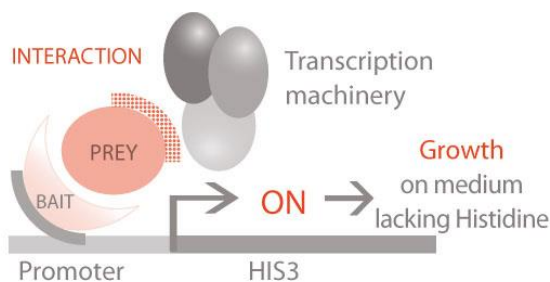
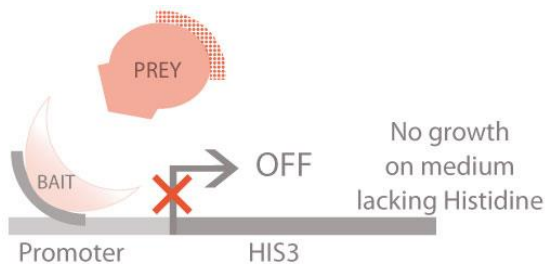


ULTimate Y2H™ YEAST TWO-HYBRID

主な使用用途

Hybrigenics Services が提供する **ULTimate Y2H™**とは、新しいタンパク質相互作用の発見を行うために最適化された **yeast two-hybrid (Y2H)** スクリーニング技術です。

- ▶ 特定のタンパク質の**新しいタンパク質**パートナーを発見
- ▶ 性質不明のタンパク質の**機能**を分析
- ▶ **経路** と分子メカニズムを解明



The interaction of 2 proteins reconstitutes an active transcription factor and enables yeast growth

BAIT = your protein of interest
PREY = protein partner of the bait

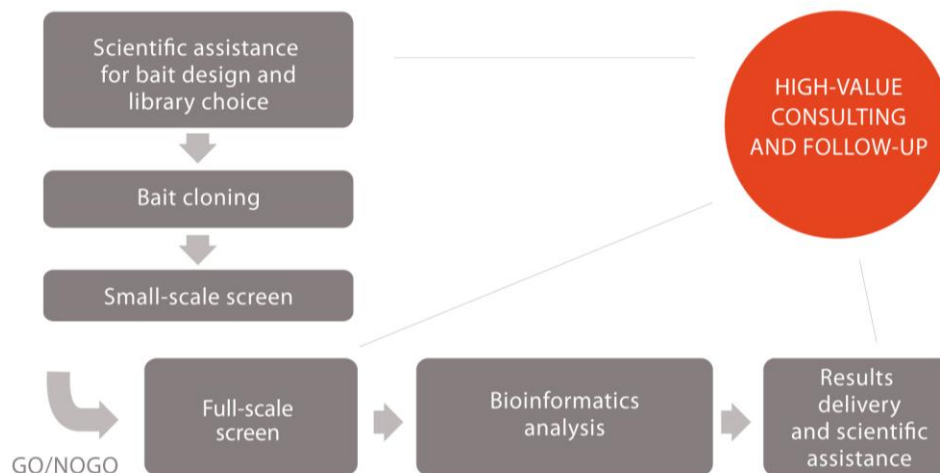
技術解説

この技術は、機能的な転写因子(TF)の再構成の後に、遺伝子操作された酵母細胞の中のレポーター遺伝子の発現に基づいた技術です。

研究対象のタンパク質(ベイト)が、ライブラリーに存在するタンパク質断片(プレイ)へ物理的結合する際、転写因子(TF)の DNA 結合ドメイン(DBD)は、活性化ドメイン(AD)に接近します。

機能的な TF の再構成は、ヒスチジン不足の媒体上で酵母細胞を成長させることのできる **HIS3** レポーター遺伝子の転写を活性化させます。ポジティブ・クローンの DNA は、タンパク質パートナーを同定するためにシーケンスされ分析されます。

スクリーニング工程



ベイトの設計

スクリーニング開始前に、弊社の ULTImate Y2H の専門家が、バイオインフォマティクス・ツールを使用して研究対象のタンパク質の検査を行い、スクリーニングに最適なベイトを提案いたします。

ベイトのクローニング (3-4 週間*)

- PCR プライマーの設計と整理
- 適切なベイト・ベクターにおけるベイトの PCR 増幅とそれ以降のクローニング
- 新しくクローンされたベイトの配列検証

スクリーニング・コンディションの最適化 (2 週間*)

ULTImate Y2H スクリーニングを実行する前に、最適なスクリーニング条件の査定を行うため、それぞれのベイトに対し、ライブラリーを用い小規模のスクリーニングを行います。

- 酵母内のベイト・トランスフォーメーション
- 小規模スクリーニング
 - ベイトの毒性検査
 - ベイトの自己活性化テストと最適なスクリーニング媒体の選択(3-アミノ・トリアゾール濃度の決定)

ULTImate Y2H™ スクリーン (5 週間*)

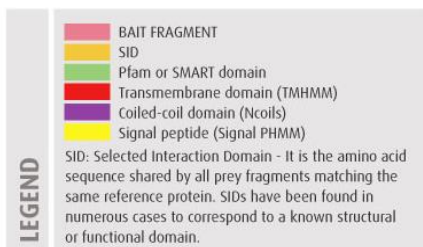
- 完全な‘細胞間接合’スクリーニング
- すべての陽性プレイ・クローンの 5p と 3p 配列決定
- 自動プレイ分析
- 最終段階の品質管理: スクリーニングの結果を証明するためにランダムでベイトとプレイを再選択

*記載されている期間は、各ステージに掛かる平均時間であり、あくまで目安となります。

結果報告

結果は、下記の書類を E-mail にてお送りいたします。

- **結果概要** (プレイ同定と相互作用ドメイン、PBS® 信頼性スコアの PDF ファイル),
- **クローン配列を含む生データ表** (XLS スプレッドシート)
- **“DomSight®”**ファイル: プレイ内の機能的ドメインと最小の相互作用ドメインの画像による比較。下記の表をご覧ください。



特定のタンパク質ベイトのための スクリーニング・サービス

ベイトの翻訳後修飾や、適切なフォールディングに必要ないかなる補助因子の酵母内発現を可能にするために、ULTimate Y2H™を改良した **ULTimate Y2H+1** をご提供いたします。

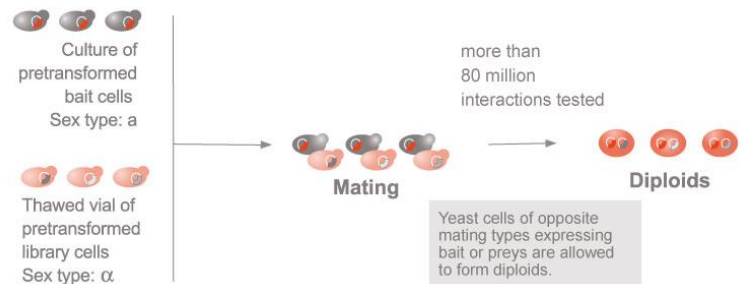
複合的な膜貫通型(TM)タンパク質の相互作用パートナーの同定をご希望でしたら、ぜひ **MBmate Y2H** をご利用ください。スプリット-ユビキチン・システムに基づくこの技術は、TM ベイト全体をスクリーニングできる唯一のソリューションです。

詳細につきましては、お気軽にご連絡ください。

利点

細胞接合プロセス

通常の Y2H プロトコルでは、一度に相互作用を数百万のみの検査と限られていましたが、わが社の特許技術では、一度のスクリーニングで平均 8300 万の相互作用の検査が可能です。



高性能ライブラリーで飽和状態へのスクリーニング

- 70 以上の cDNA とゲノム・ライブラリーを選択でき、カスタム・ライブラリーも作成可能
- 酵母内の 1000 万の独立したクローンから成るランダム・プライムを用いた cDNA ライブラリーがご利用になれます。
- 弊社独自のライブラリーで高精度のスクリーニング

信頼性スコア

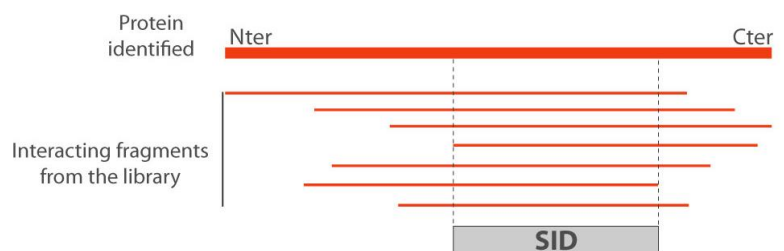
Hybrigenics は、それぞれの相互作用に統計的な信頼性スコア Predicted Biological Score (PBS®)を付けます。相互作用を起こすタンパク質は、以前行った同様の有機体のスクリーニングからの情報や独立したプレイの断片数などの技術的なパラメーターに従ってランク付けされます。

PBS®は、e-value や閾値として計算され、ランク A から D の相互作用の信頼性スコアを与えられます。ランク E と F には、それぞれ異なるカテゴリーが与えられる事になります。ランク E は、関連性の高いプレイ・ドメインのカテゴリーとされ、ランク F には、技術的偽陽性のカテゴリーが与えられます。



特定の相互作用ドメインの同定 (SID®)

弊社のドメイン・ライブラリーを利用する事により、対象の分子と相互作用を起こす極小のタンパク質ドメインの描写が可能になります。



要点 - ULTimate Y2H

- **包括的な結果**をもたらす高速かつ徹底的なスクリーニング
- 微弱な相互作用や珍しいトランスクリプトからの相互作用をも **検知**
- 信頼性スコアによる結果の **シンプルかつ高速化された分析**
- 最初のスクリーニングの結果が 20 以下のポジティブ・クローンを提示した場合、無料で追加のスクリーニングを行い **完全な結果を提供**
- ベイトの設計から結果の調査まで、**科学的専門技術やアドバイスを提供**