

部位飽和変異体ライブラリ / Site Saturation Variant Libraries

タンパク質工学のスクリーニングに単一位点変異体ライブラリを使用することで、タンパク質の配列空間を探索し、タンパク質の配列と機能や構造の関連性を調べることが可能となります。変異体ライブラリの作製には様々な手法がありますが、その多くはコドンのコントロール不良や配列バイアス、希望する変異体の不完全な生成などの重大な欠点や制限を抱えています。

Twist Bioscienceの部位飽和変異体ライブラリは、シリコンベースのDNA合成プラットフォームと幅広い分子生物学の専門知識・技術を用いた大規模なオリゴヌクレオチド並列合成を利用して、系統的かつ正確に変異体ライブラリを作製しています。さらに当社のライブラリでは、次世代シーケンス (NGS) による検証を行い、ご希望のあらゆる変異体が正しい比率で存在していることを確認しています。

仕様

- 価格: 1部位につき50ドル
- 製品構成: 二本鎖DNA断片
- 納品フォーマットおよび収量:
 - 収量1 µg以上 (プロジェクトに応じて追加料金が発生します)
 - 96穴プレートにて、1部位/ウェルで納品 (50~100 ng/ウェル)
- 出荷見込: 約4週間 (プロジェクトに応じる)

主な利点

正確に作製された変異体ライブラリ

- コドン使用率の完全なコントロール (全64コドンが利用可能)
- 各部位での変異体発現の高い均一性
- 不要なコドンや未成熟終止コドンなし

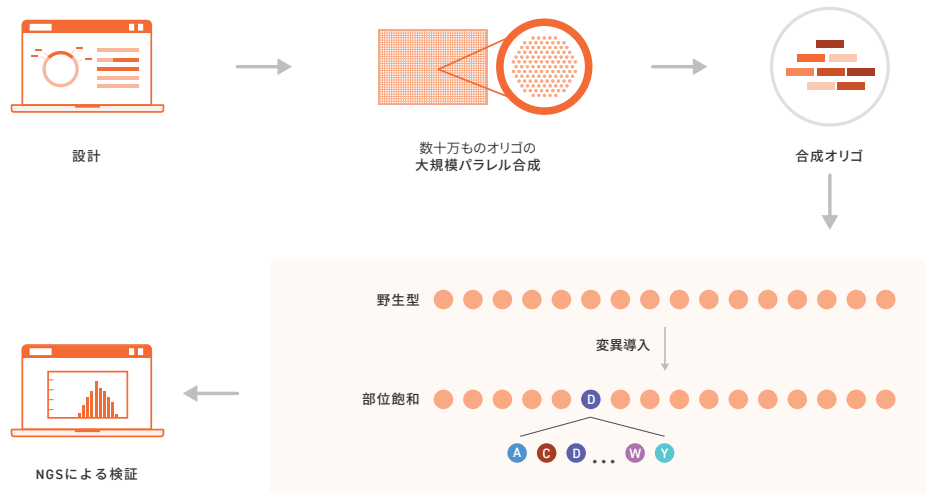
品質の検証

- 厳格な品質管理
- 変異導入部位のNGS解析により変異体存在比の均一性を検証
- 質量分析により各変位の存在比を標準化

柔軟性

- 納品オプションとして、ライブラリのプールと部位ごとのプールを選択可能
- 各部位で1~20種のアミノ酸のあらゆる組み合わせをスクリーニング
- 配列変異やIndel変異を調査

シリコンベースDNA合成プラットフォームにより改良されたライブラリの生成



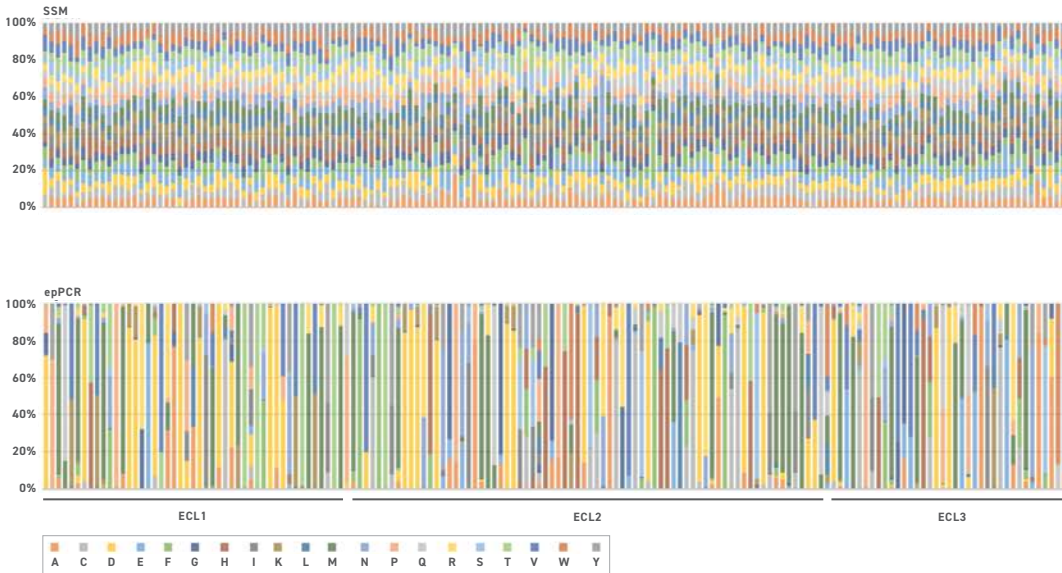
Twist Bioscienceの部位飽和変異体ライブラリ合成ワークフロー。大規模なオリゴヌクレオチド並列合成、先進的な分子生物学の経験、ハイスループットな自動化された手法により、求めるすべての変異体が希望する比率で含まれるライブラリが正確に作製されます。

	エラーブローンPCR	縮重 (NNK/NNS)	TWIST部位飽和変異体ライブラリ
配列バイアスの排除	×	×	○
利用可能なコドン数	不明	32	64すべて
望ましくないモチーフの回避	×	×	○
コドン最適化	×	×	○
終止コドンの回避	×	○	○

一般的な部位飽和変異体ライブラリ作成法との比較

優れた設計のポテンシャルを完全に発揮

当社の部位飽和変異体ライブラリによって、高品質で合理的なライブラリの設計が実現します。設計したライブラリには、希望した変異が希望した通りの部位に含まれ、選択したコドンにエンコードされます。また、スクリーニングの手間が増える不要なバイアスを避けることもできます。設計したライブラリには希望する変異体が必ず含まれます。



TWISTのライブラリの場合

- 10個の候補タンパク質が発見されました。
- エラーブローンPCR (epPCR) ライブラリで観測された候補タンパク質が、Twistライブラリで確認されました。
- 設計された変異体の99.8%超を含んでいます。

エラーブローンPCRの場合

- 2個の候補タンパク質が発見されました。
- 空のベクターの割合が高い。

各色は固有のアミノ酸を表しています。各残基は19個の異なるアミノ酸に変異し、アミノ酸1個あたりの推定頻度は5.26%です*。Twist 部位飽和変異体ライブラリの次世代シーケンス (NGS) から、各アミノ酸の平均頻度は5.23% + 2.2%であったことが示されました。3,059の変異体のうち3,055の変異体が観測されました (99.8%)。

Twist Bioscience社のシリコンベースプラットフォームにより、高度に均一な変異体ライブラリの作製が可能となり、重要なバリエーションが見落とされるリスクを回避できます。従来の部位飽和変異体ライブラリ、不均等な表現、望ましくないバイアスによって制限されており、その結果、下流スクリーニングにより多くの時間と資金が費やされてきました。変異体の多様性を正確に捕捉できることから、可能性のあるすべての部位変異体を包括的に調査することが可能です。

高精度のライブラリで新たな発見を

コドンの使用を含めた、変異体の正確なコントロール: 作製された変異体は、制約やバイアスなしに希望する比率で実験デザインに適合します。

NGSによる変異体の発現確認: ライブラリに発現した変異体を信頼いただけます。

不要な配列モチーフを回避できる柔軟性: 未成熟終止コドンなどの不要な遺伝因子、制限酵素部位、TF結合部位などを避けることができます。

*公表:pubs.acs.org/doi/10.1021/acssynbio.8b00118

デザインしてください、私たちが作り上げます。 library@twistbioscience.com にご連絡ください。または twistbioscience.com をご覧ください。