



## 단백질 발현 · 분석

### L-a 단백질 발현 시스템

pCold Vector 시리즈	L-2
pCold ProS2 DNA	L-3
pCold TF DNA	L-4
Single Protein Production system (SPP System)	L-5
Human Cell-Free Protein Expression System	L-7
<i>B. subtilis</i> Secretory Protein Expression System	L-8
<i>Brevibacillus</i> Expression System	L-9
<i>Brevibacillus</i> Expression System Intracellular Expression Vectors	L-11
Chaperone Plasmid Set	L-12
Chaperone Competent Cell BL 21 시리즈	L-13
ProEasy Baculovirus Vector	L-14
ProFold Baculovirus Vector	L-15
Transfer Vector	L-16
FoldHelper Helper Baculovirus	L-17
Control Baculovirus	L-18
pLIVE Vector 시리즈	L-18

### L-b 단백질 Refolding

Refolding CA Kit	L-19
Corystein (Purothionin)	L-20
Protein Disulfide-Isomerase (PDI)	L-20
Calpastatin	L-20

### L-c 단백질 추출 · 정제

IDA Excellose Purification of polyhistidine tagged protein	L-21
Glutathione Excellose Purification of GST fusion protein	L-21
MBP Excellose Purification of MBP fusion protein	L-21
Protein A Excellose Antibody purification	L-21
Protein G Excellose Antibody purification	L-21
Chelating Excellose Spin Kit His-tagged Protein Purification	L-22
Glutathione Excellose Spin Kit GST Fusion Protein Purification	L-22
MBP Excellose Spin Kit MBP Fusion Protein Purification	L-22
IDA MiniExcellose	L-22
Glutathione MiniExcellose	L-22
MBP MiniExcellose	L-22

# 단백질 발현 시스템

대장균의 Cold Shock 발현계

## pCold® vector 시리즈

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pCold Vector Set	TKR	3360	1 set (각 5 µg)	1,631,000원
pCold I DNA	TKR	3361	25 µg	583,000원
pCold II DNA	TKR	3362	25 µg	583,000원
pCold III DNA	TKR	3363	25 µg	583,000원
pCold IV DNA	TKR	3364	25 µg	583,000원

■ 보존 - 20°C

### ■ 제품설명

대장균 Cold Shock 유전자 *cspA*의 promoter 서열과 5' 비 번역 영역을 이용한 새로운 단백질 발현 시스템이다. *cspA* promoter의 하류에는 발현을 제어하기 위한 *lac* operator가 삽입되어 있다. 본 vector를 이용하여 저온으로 발현 유도함으로써, 숙주 대장균 유래 단백질의 합성이 억제되며 목적 단백질을 고효율로 얻을 수 있다. 기존의 대장균 발현계와 비교하여 발현량이나 가용성의 향상을 기대할 수 있다.

pCold vector에는 TEE\* 서열, His·Tag 서열, Factor Xa 절단 서열의 유무에 따라 4 종류의 vector pCold I-IV가 있어 목적에 적합한 최적의 vector를 선택할 수 있다.

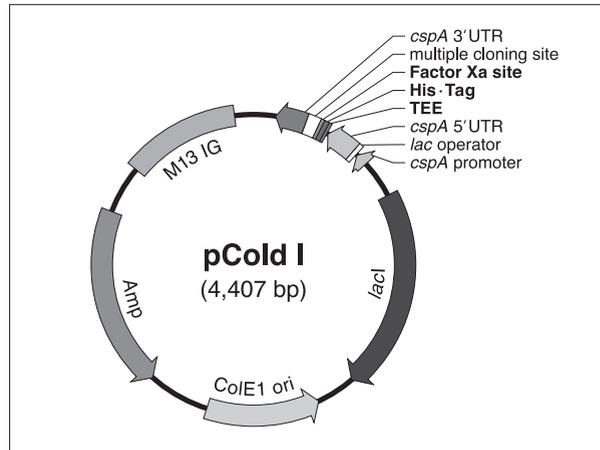
\*Translation Enhancing Element의 약자로 번역을 촉진하는 기능을 가진다.

	TEE 서열	His·Tag 서열	Factor Xa 절단 서열
pCold I DNA	○	○	○
pCold II DNA	○	○	×
pCold III DNA	○	×	×
pCold IV DNA	×	×	×

### ■ 특징

- 높은 생산 효율 : 목적 단백질의 발현이 최대 숙주 대장균 내 단백질의 60%에 이릅니다
- 발현 확률의 향상 : T7계에서는 발현되지 않는 많은 단백질의 발현이 가능
- 가용성 발현의 향상 : T7계에서는 불용성 발현이었으나, 많은 단백질이 가용성 발현, 목적 단백질의 soluble 발현에는 Chaperone Plasmid Set (Code 3340), Chaperone Competent Cell BL21 시리즈 (Code 9120-9125)를 이용
- 동위체 표식에 편리 : 목적 단백질이 최대로 신생 단백질의 90% 이상이므로, 효율적인 표식이 가능
- 폭넓은 숙주 사용 가능 : 대장균에 유래하는 *cspA* promoter에 의해 전사되므로 거의 모든 대장균을 숙주로 사용 가능

### ■ pCold I DNA의 구조



### ■ 사용상의 주의

pCold vector는 New Jersey 의과대학교로부터 라이선스를 받아, Takara Bio에서 제조 및 판매를 하고 있습니다. 본 제품은 연구 목적으로만 사용 허가를 받았습니다. 본 제품 혹은 본 제품을 이용해 제조한 것을 상업적인 목적으로 사용할 경우에는 별도 상업 이용 계약을 체결해야 합니다. 또한, 본 제품의 구성 부분 또는 그 유도체 및 이를 제조된 것을 제삼자에게 양도(무료 배포, 판매) 할 수 없습니다.

제품 구입 시에는 첨부된 라이선스 동의서에 필요 사항을 기입한 후, 주문 시 당사로 제출해 주십시오. 본 동의서가 첨부되지 않으면 제품 출하가 불가능하므로 주의하시기 바랍니다. 라이선스에 대한 문의는 당사로 직접 문의하시기 바랍니다.

■ License Notice : [L13a, M9]

L-a

단백질 발현 시스템

# pCold® ProS2 DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
PCold ProS2 DNA	TKR	3371	25 µg	1,049,000원

■ 보존 - 20 °C

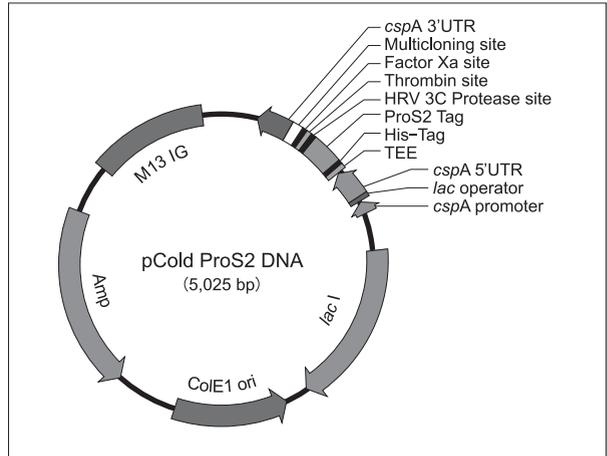
■ 제품설명

pCold ProS2 DNA는 그람음성 점액세균 *Myxococcus xanthus* 유래의 Protein S를 soluble tag로 사용하는 새로운 pCold vector 시리즈이다. 173 개의 아미노산으로 구성된 Protein S는 *Myxococcus xanthus*가 형성하는 포자의 외각에 존재하며 매우 안정적인 soluble 단백질이다. Protein S의 NTD (N-terminal domain)를 세로로 2개 연결한 ProS2 tag (약 23 kDa)를 목적 단백질의 N-말단에 융합·발현시켜 융합 단백질의 안정성, 가용성을 향상시킬 수 있다. 또한 목적단백질과의 상호 작용이 낮기 때문에 목적단백질 부분과 soluble tag (ProS2)를 효율적으로 분리할 수 있다.

본 vector에는 *cspA* promoter 하류의 5' UTR 과 Translation Enhancing Element (TEE), His tag, ProS2 tag, multicloning site (MCS) 등이 배치되어 있다. TEE는 번역을 촉진하여 His tag 발현 단백질의 정제에 유용하다. 또한 promoter 하류에 발현을 강력하게 제어하는 *lac* operator가 포함되어 있다. 또한, ProS2 tag와 MCS 사이에 HRV 3C Protease, Thrombin, Factor Xa 인식 서열이 있어 발현 후 융합 단백질에서 tag를 제거할 수 있고, 다른 pCold DNA 시리즈와 마찬가지로 대장균의 promoter를 사용하고 있기 때문에 대부분의 대장균주를 숙주로 이용할 수 있다.

Cold Shock vector 시리즈의 고효율 단백질 발현 능력과 ProS2의 soluble tag 기능을 가진 pCold ProS2 DNA 를 이용하면 손쉽게 단백질 발현·정제계를 구축할 수 있다.

■ pCold ProS2 DNA 구조



■ 사용상의 주의

pCold vector는 New Jersey 의과대학교로부터 라이선스를 받아, TaKaRa Bio에서 제조 및 판매를 하고 있습니다. 본 제품은 연구 목적으로만 사용 허가를 받았습니다. 본 제품 혹은 본 제품을 이용해 제조한 것을 상업적인 목적으로 사용할 경우에는 별도 상업 이용 계약을 체결해야 합니다. 또한, 본 제품의 구성 부분 또는 그 유도체 및 이를 이용하여 제조된 것을 제3자에게 양도 (무료 배포, 판매) 할 수 없습니다.

제품 구입 시에는 첨부된 라이선스 동의서에 필요 사항을 기입한 후, 주문 시 당사로 제출해 주십시오. 본 동의서가 첨부되지 않으면 제품 출하가 불가능하므로 주의하시기 바랍니다. 라이선스에 대한 문의는 당사로 직접 문의하시기 바랍니다.

■ License Notice : [L13a, L43, M9]

# pCold® TF DNA

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pCold TF DNA	TKR	3365	25 µg	1,129,000원

- 보존 - 20°C
- GenBank  
Accession No. : AB213654

■ 제품설명

pCold TF DNA는 *E. coli* Chaperone의 일종인 Trigger Factor (TF, 분자량 48 kDa)를 soluble tag로 하는 Fusion Cold Shock 발현 vector이다. pCold DNA와 마찬가지로 *E. coli* Cold Shock 유전자의 하나인 *cspA* 유전자의 promoter를 이용하고 있으며, *cspA* promoter 하류에 5' untranslated region (5' UTR), Translation Enhancing Element (TEE), His-tag 서열, TF tag 서열, MCS (multiple cloning site)가 배치되어 있다. 또한, promoter 하류에는 발현을 엄격하게 제어하기 위한 *lac* operator가 삽입되어 있다. TF tag와 MCS 사이에는 HRV 3C Protease, Thrombin, Factor Xa 인식서열이 있어 발현 후 융합 단백질의 tag를 제거하는데 이용할 수 있다.

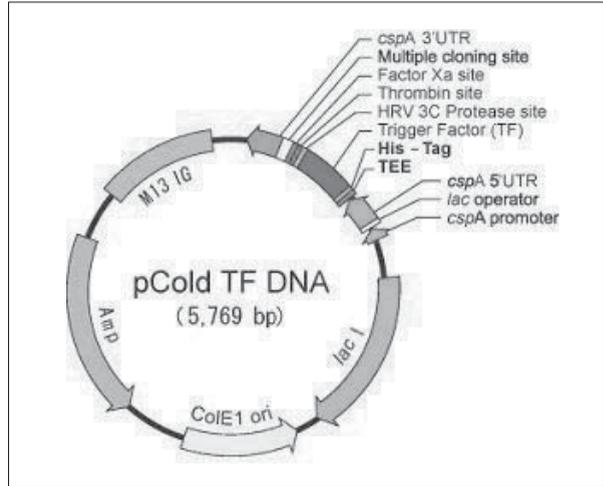
Cold Shock 발현 시스템은 저온에서 발현을 유도하기 때문에 숙주 *E. coli* 유래의 단백질 합성이 억제되어 목적 단백질을 고효율로 얻을 수 있어, 지금까지의 *E. coli* 발현계와 비교하면 발현량과 가용성의 향상을 기대할 수 있다. 더욱이 TF의 soluble tag 기능 및 chaperone 기능으로 인해 지금까지 발현이 어려웠던 유전자를 한층 높은 확률로 soluble 단백질로 발현시킬 수 있다.

■ 특징

- 높은 생산효율 : 목적 융합 단백질의 생산이 숙주 *E. coli* 내 단백질의 최대 60%에 이릅니다
- 발현 확률의 향상 : TF tag의 효과로 T7계나 종전의 pCold 발현계에서는 발현하지 않던 대부분의 단백질 발현이 가능
- 가용성 발현의 향상 : TF tag의 효과에 의해 T7계나 종전의 pCold 발현계에서는 불용성 발현이던 대부분의 단백질이 가용성으로 발현
- 간단한 정제 : His tag를 이용해 간단하게 융합 단백질을 정제할 수 있고, 정제 후에는 3 종류의 protease 에 의해 tag 서열을 제거 가능<sup>\*)</sup>.
- 폭넓은 숙주 사용 가능 : *E. coli* 유래의 *cspA* promoter에 의해 전사되므로 거의 모든 *E. coli* 를 숙주로 사용 가능

주) 목적 단백질에 따라서는 TF와의 상호작용으로 인해 절단 후에도 TF가 목적 단백질에서 분리되지 않는 경우가 있습니다.

■ pCold TF DNA 의 구조



■ 사용상의 주의

pCold vector는 New Jersey 의과대학교로부터 라이선스를 받아, Taka ra Bio에서 제조 및 판매를 하고있습니다. 본 제품은 연구 목적으로만 사용 허가를 받았습니다. 본 제품 혹은 본 제품을 이용해 제조한 것을 상업적인 목적으로 사용할 경우에는 별도 상업 이용 계약을 체결해야합니다. 또한, 본 제품의 구성 부분 또는 그 유도체 및 이들 제조된것을 제삼자에게 양도 (무 료 배포, 판매) 할 수 없습니다.

제품 구입 시에는 첨부된 라이선스 동의서에 필요 사항을 기입한 후, 주문 시 당사로 제출해 주십시오 본 동의서가 첨부되지 않으면 제품 출하가 불가능하므로 주의하시기 바랍니다. 라이선스에 대한 문의는 당사로 직접 문의 하시기 바랍니다.

- License Notice : [L13a, M9, M10]

L-a

단백질 발현 시스템

# Single Protein Production system (SPP system®)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
SPP System Set	TKR	3366	1 set	2,236,000원
SPP System I	TKR	3367	1 set	1,118,000원
SPP System II	TKR	3368	1 set	1,118,000원
SPP System III	TKR	3369	1 set	1,118,000원
SPP System IV	TKR	3370	1 set	1,118,000원

### ■ 내용

#### SPP System Set (Code 3366)

Cold Shock Expression vector for SPP System pCold I - IV (SP-4) DNA (0.5 $\mu$ g/ $\mu$ l)	각 20 $\mu$ g
MazF (mRNA Interferase) expression plasmid pMazF DNA (20 ng/ $\mu$ l)	0.5 $\mu$ g
Positive Control pCold I (SP-4) envZB DNA* (20 ng/ $\mu$ l)	0.2 $\mu$ g

\* Expression plasmid prepared by inserting ORF of *E. coli*-derived protein envZB without ACA sequence into pCold I (SP-4) DNA Estimated molecular weight of expressed protein 19.6 kDa

#### SPP System I (Code 3367)

Cold Shock Expression vector for SPP System pCold I (SP-4) DNA	20 $\mu$ g (0.5 $\mu$ g/ $\mu$ l)
MazF (mRNA Interferase) expression plasmid pMazF DNA	0.5 $\mu$ g (20 ng/ $\mu$ l)
Positive Control pCold I (SP-4) envZB DNA	0.2 $\mu$ g (20 ng/ $\mu$ l)

#### SPP System II (Code 3368)

Cold Shock Expression vector for SPP System pCold II (SP-4) DNA	20 $\mu$ g (0.5 $\mu$ g/ $\mu$ l)
MazF (mRNA Interferase) expression plasmid pMazF DNA	0.5 $\mu$ g (20 ng/ $\mu$ l)
Positive Control pCold I (SP-4) envZB DNA	0.2 $\mu$ g (20 ng/ $\mu$ l)

#### SPP System III (Code 3369)

Cold Shock Expression vector for SPP System pCold III (SP-4) DNA	20 $\mu$ g (0.5 $\mu$ g/ $\mu$ l)
MazF (mRNA Interferase) expression plasmid pMazF DNA	0.5 mg (20 ng/ $\mu$ l)
Positive Control pCold I (SP-4) envZB DNA	0.2 $\mu$ g (20 ng/ $\mu$ l)

#### SPP System IV (Code 3370)

Cold Shock Expression vector for SPP System pCold IV (SP-4) DNA	20 $\mu$ g (0.5 $\mu$ g/ $\mu$ l)
MazF (mRNA Interferase) expression plasmid pMazF DNA	0.5 $\mu$ g (20 $\mu$ g/ $\mu$ l)
Positive Control pCold I (SP-4) envZB DNA	0.2 $\mu$ g (20 ng/ $\mu$ l)

■ 보존 - 20℃

### ■ GenBank

	Accession No.
pCold I (SP-4)	AB248600
pCold II (SP-4)	AB248601
pCold III (SP-4)	AB248602
pCold IV (SP-4)	AB248603

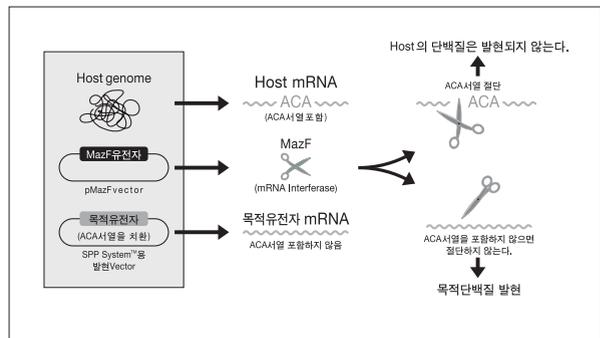
### ■ 제품설명

Single Protein Production (SPP) 시스템은 미국 New Jersey 의과대학교의 Dr. M. Inouye 그룹이 개발한 기술로, *E. coli*의 단백질 MazF가 단일가닥 RNA의 특정 서열 (ACA)을 인식해서 절단하는 효소 (mRNA Interferase)라는 것을 이용하여 숙주 유래의 단백질 발현을 억제하고 목적 단백질의 발현만을 효율적으로 실시하는 기술이다.

SPP 시스템에서는 아미노산 서열을 유지한 채 발현시키려는 유전자 내의 ACA 서열을 ACA와는 다른 서열로 치환, MazF와 함께 발현시킨다. 대부분의 숙주 단백질의 mRNA는 ACA 서열을 가지고 있기 때문에 MazF에 의해 분해되어 신규 발현이 억제되지만, ACA 서열이 없는 목적 단백질 유전자의 mRNA는 절단되지 않고 목적 단백질 발현만을 효율적으로 진행시킬 수 있다. 본 시스템은 Cold Shock 발현 vector를 개조하여 사용하기 때문에 목적 단백질의 유도 발현이나 동위원소 표지에 적합하다. 당사의 기존 Cold Shock 발현 벡터에도 목적 단백질의 특이적인 동위원소 표지가 가능하지만 SPP 시스템은 목적 이외의 단백질 발현이 더욱 억제되어 목적 단백질에 대해 한층 더 높은 발현 유도, 높은 표지 효율을 기대할 수 있다. 다만, 목적 단백질에 따라서는 발현량이 Cold Shock 발현 vector 단독계보다 낮아지는 경우가 있다.

SPP System 시리즈 제품에는 전사영역 내의 ACA 서열을 다른 서열로 치환한 SPP 시스템용 Cold Shock 발현 vector와 적당한 발현량을 제공하는 MazF expression plasmid가 포함되어 있다. Cold Shock expression vector for SPP System은 Cold Shock expression vector와 마찬가지로 TEE (translation enhancing element) 배열, His tag 서열, Factor Xa 절단 서열의 유무가 다른 pCold I (SP-4) DNA~pCold IV (SP-4) DNA와 같은 4종류가 있으므로 목적에 맞게 선택할 수 있다.

### ■ SPP System의 원리

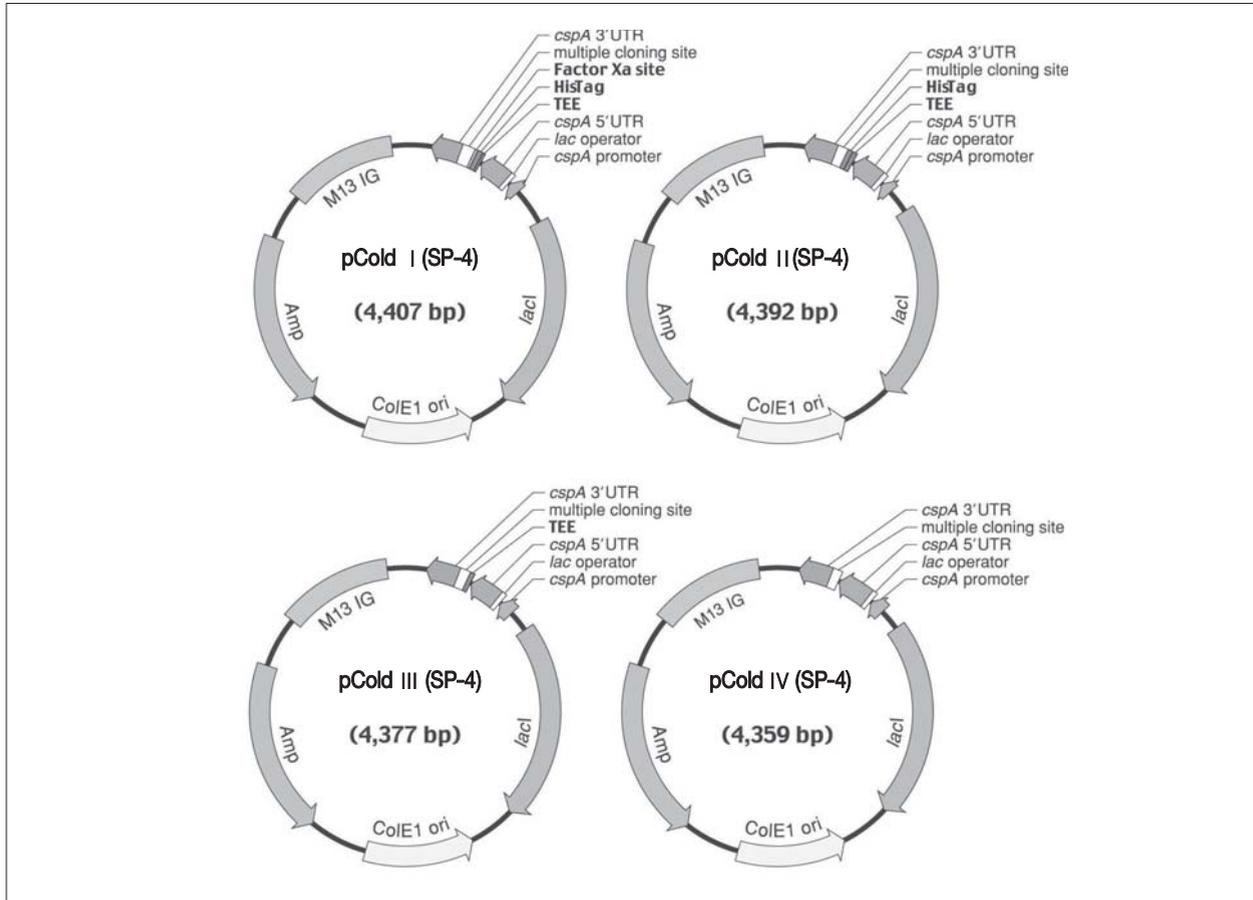


### ■ 특징

- 동위원소 표식에 편리 : 목적 단백질이 최대 90% 이상까지 점유하므로 효율적인 라벨링 가능
- 폭넓은 숙주 사용 가능 : *E. coli* 유래의 *cspA* promoter를 통해 전사되므로 거의 모든 대장균을 숙주로 사용가능. 다만, co-expression 하는 pMazF DNA가 선택 마커로서 chloramphenicol을 사용하기 때문에 chloramphenicol-내성을 나타내는 대장균 (Rosseta 등)을 숙주로 사용할 수 없음

■ License Notice : [L19]

■ pCold 시리즈의 구조



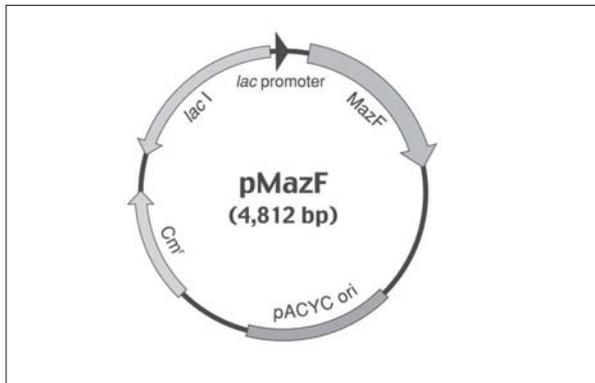
L-a

단백질 발현 시스템

	TEE 서열*	His-Tag 서열	Factor Xa 절단 서열
pCold I (SP-4) DNA	○	○	○
pCold II (SP-4) DNA	○	○	x
pCold III (SP-4) DNA	○	x	x
pCold IV (SP-4) DNA	x	x	x

\* TEE : translation enhancing element

■ MazF 발현 plasmid pMazF의 구조



■ 사용상의 주의

pCold vector는 New Jersey 의과치과대학로부터 라이선스를 받아, Takara Bio에서 제조 및 판매를 하고있습니다. 본 제품은 연구 목적으로만 사용 허가를 받았습니다. 본 제품 혹은 본 제품을 이용해 제조한 것을 상업적인 목적으로 사용할 경우에는 별도 상업 이용 계약을 체결해야합니다. 또한, 본 제품의 구성 부분 또는 그 유도체 및 이들 제조된것을 제삼자에게 양도 (무료 배포, 판매) 할 수 없습니다.

제품 구입 시에는 첨부된 라이선스 동의서에 필요 사항을 기입한 후, 주문 시 당사로 제출해 주십시오. 본 동의서가 첨부되지 않으면 제품 출하가 불가능하므로 주의하시기 바랍니다. 라이선스에 대한 문의는 당사로 직접 문의하시기 바랍니다.

■ License Notice : [L19] 라이선스 동의서 제출 후 구매가능

# Human Cell-Free Protein Expression System

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Human Cell - Free Protein Expression System	TKR	3281	10 회	444,000원

■ 내용 (library 제작 10회분)

Cell Lysate <sup>1</sup>	100 $\mu$ l
Mixture-1	60 $\mu$ l
Mixture-2 <sup>2</sup>	10 $\mu$ l
Mixture-3 <sup>2</sup>	20 $\mu$ l
T7 RNA Polymerase (200 U/ $\mu$ l)	10 $\mu$ l
pT7-IRES Vector (0.5 $\mu$ g/ $\mu$ l)	20 $\mu$ l
Control Vector <sup>3</sup> (0.3 $\mu$ g/ $\mu$ l)	5 $\mu$ l

<sup>1</sup> 사용 직전에 녹여서 피펫등으로 부드럽게 충분히 섞은 후 바로 사용한다. 또한 사용 후에는 즉시 -80°C에서 보관한다.

(<sup>2</sup>) 5회 정도의 동결융해에는 일반적인 성능저하는 보이지 않았으나, 가능한 한 분주하여 보관할 것을 권장한다.

<sup>2</sup> Mixture-2 및 Mixture-3은 단백질을 포함하고 있다. 과도한 교반 등 단백질의 실실을 유도하는 조작은 피해야 한다. Mixture-2에 포함되는 단백질에는 HN-Tag이 첨가되어 있다.

<sup>3</sup>  $\beta$ -Galactosidase 유전자가 포함되어 있다.

■ 보존 - 80°C

■ 제품설명

Human Cell-Free Protein Expression System은 human 세포주 유래의 세포 추출액을 이용한 cell-free 단백질 합성 시스템이다. 본 시스템의 cell lysate에는 *in vitro*에서 단백질 합성에 필요한 각종 인자 (리보솜, 번역개시, 신장인자, tRNA)가 포함되어 있다. 이 cell lysate에 목적 유전자를 클로닝시킨 pT7-IRES Vector, T7 RNA Polymerase, Mixture-3 (ATP등과 아미노산류), Mixture-2 (번역증강인자)등을 첨가만 하는 간단한 프로토콜로 하나의 튜브 내에서 RNA 전사에서 단백질 합성까지 이룰 수 있다.

pT7-IRES Vector에서 전사되는 목적 유전자 RNA에는 단백질 번역개시를 촉진하기 위해 IRES 서열이 부가되어있다. 또한 반응액에 첨가되는 번역 증강 인자는 단백질 합성을 진행함과 동시에 불활성화되는 cell lysate 유래의 번역 개시 인자를 재활성화하여 번역레벨을 유지하는 효과가 있다. 이와 같은 번역효율 증강효과에 의해 본 시스템에서는 종래의 포유류 cell-free 단백질 합성계의 결점 이었던 낮은 합성레벨이 개선됨과 동시에 150 kDa을 초과하는 단백질의 합성에도 응용 가능하다는 것을 확인하였다.

본 시스템은 single-step 반응계를 이용하여 high throughput 단백질 합성에의 응용과 생세포를 이용한 발현계에서는 합성이 어려운 숙주 세포의 생육과 세포 기능에 영향을 미치는 독성 단백질의 합성에 이용할 수도 있다.

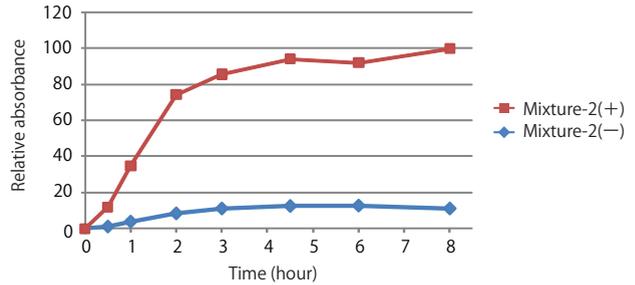
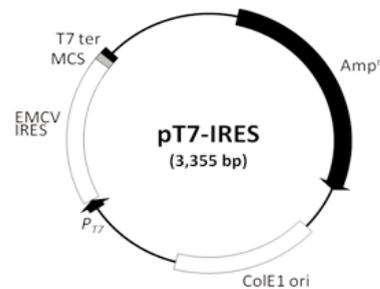


그림 2.  $\beta$ -Galactosidase의 시간 경과에 따른 발색과 번역 증강인자 (Mixture-2)의 효과

■ Vector Map



■ 용도

- 고분자량 단백질의 합성
- 기능성 단백질의 합성
- 독성 단백질의 합성
- cDNA 산물의 포괄적인 검열
- 단백질 / 단백질 상호 작용 분석
- 단백질 / DNA 상호 작용 해석
- 단백질의 변이 도입 분석

■ License Notice : [L39]

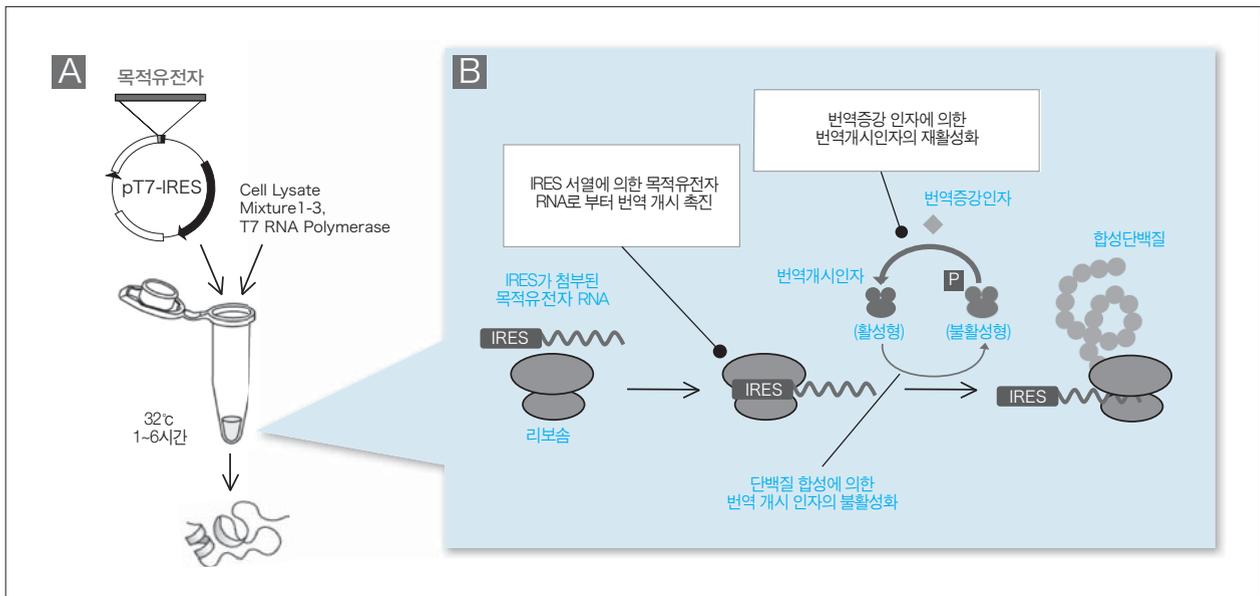


그림 1. Human Cell-free Protein Expression 시스템 개요

# B. subtilis Secretory Protein Expression System

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
B. subtilis Secretory Protein Expression System	TKR	3380	10 회	830,000원

■ 내용 (library 제작 10 회분)

SP DNA mixture (0,032 pmol/ $\mu$ l) <sup>1)</sup>	45 $\mu$ l
pBE-S DNA (0.5 $\mu$ g/ $\mu$ l) <sup>2)</sup>	20 $\mu$ l
<i>B. subtilis</i> RIK1285 (glycerol stock) <sup>3)</sup>	100 $\mu$ l $\times$ 2

<sup>1)</sup> In-Fusion cloning용의 173 가지 *B. subtilis* 분비 signal peptide DNA  
<sup>2)</sup> 형상 : TE buffer (pH8.0)  
<sup>3)</sup> Marburg 168 derivative: *trpC2, lys1, aprE Δ3, nprR2, nprE18*

■ 보존 - 80℃

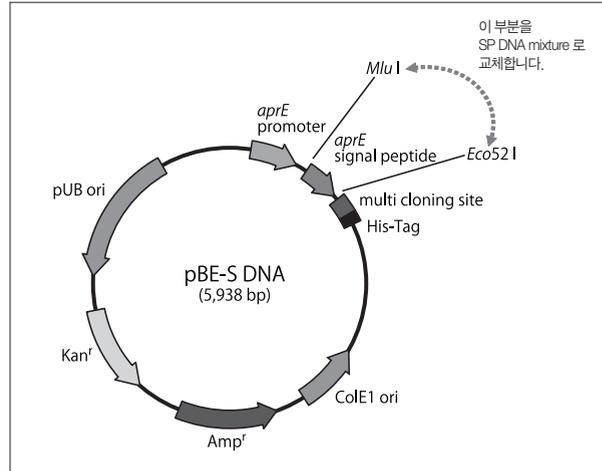
SP DNA mixture 및 pBE-S DNA는 -20℃에서도 저장이 가능합니다.

■ 제품설명

*Bacillus subtilis*를 숙주로 하는 재조합 단백질의 생산은 soluble 발현 및 분비 발현에 뛰어나다. 특히 S-S결합과 같은 복잡한 구조를 가지는 단백질에 효과적이다. 또한, 대장균을 숙주로하는 발현계와는 달리 endotoxin이 생산 단백질 중에 혼입하지 않는다. 이러한 장점이 있는 반면에, 이종 단백질의 분비 효율은 signal peptide 타입에 크게 영향을 준다는 것이 T. Eggert 그룹에 의해 보고되고 있다. TaKaRa Bio는 *B. subtilis*의 효율적인 분비 발현계의 구축과 스크리닝을 위한 시스템을 개발하였다. 본 시스템에서는 *B. subtilis* 유래의 173 종류의 분비 signal peptide에서 목적 단백질의 분비 발현에 적합한 signal peptide를 스크리닝 하는 것이 가능하다. 또한, *B. subtilis* plasmid는 복제수가 대단히 적기 때문에 *B. subtilis*에서의 plasmid 구축이 곤란하다는 문제가 있지만, 본 시스템의 pBE-S DNA는 *E. coli* 와 *B. subtilis* 의 shuttle vector이며 대장균에서 발현 plasmid를 구축할 수 있다.

본 시스템은 *B. subtilis* 분비 signal peptide DNA library인 SP DNA mixture, *B. subtilis-E. coli* shuttle vector pBE-S DNA 및 단백질 발현용 숙주 *B. subtilis* RIK1285가 포함되어 있다. SP DNA mixture는 173종류의 *B. subtilis* 유래 분비 signal peptide를 코딩하는 DNA단편 (In-Fusion cloning용)의 혼합물이다. pBE-S DNA에는 *B. subtilis*에서 기능하는 pUB110유래의 복제ori (pUBori)와 kanamycin 내성유전자 (Kan<sup>r</sup>) *E. coli*에서 기능하는 pUC유래의 복제 ori (ColE1 ori)과 ampicillin 내성유전자 (Amp<sup>r</sup>)가 포함되어 있다. 게다가, *B. subtilis* 유래의 subtilisin promoter (*aprE* promoter)와 분비 signal peptide (*aprE* SP)를 포함하고, 그 하류에 multicloning site (MCS) 및 His-tag 배열이 배치되어 있다. MCS에 목적 유전자를 삽입한 pBE-S DNA를 제한 효소 *Mlu*I와 *Eco*52 I로 절단하여 선형화한 후, Clontech사의 In-Fusion cloning 시스템으로 *aprE* SP의 대신 SP DNA mixture 중의 173 종류의 분비 signal peptide DNA의 library를 도입하여 (그림 참조), 목적 단백질에 적합한 고분비 발현계 스크리닝이 가능하다. MCS는 대장균 Cold shock 발현계 pCold vector (Code 3360 3365, 3371)와 같은 배열 때문에, 쉽게 목적 유전자를 넣어 조작할 수 있다. 본 kit에 첨부된 숙주 *B. subtilis* RIK1285는 2 종류의 단백질분해효소 생산 능력이 없기 때문에, 목적 단백질의 분비 발현에 적합하다.

■ pBE-S DNA vector 의 구조



■ 사용상의 주의

- 본 kit는 In-Fusion HD PCR Cloning Kit와 함께 사용하십시오. 또한, 고효율 형질 전환체를 얻기 위하여, *E. coli* HST08 Premium Competent Cell을 사용하는 것이 좋습니다.
- SP DNA mixture는 PCR 증폭한 DNA fragment를 혼합하여 조제하고 있습니다. 따라서 빈도는 낮지만 primer dimer 등의 PCR 증폭 부산물이 복제되는 경우가 있습니다.

L-a

단백질 발현 시스템

# Brevibacillus Expression System

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Brevibacillus Expression System II	HIG	HB200	1 Kit	1,775,000원
pNY326 DNA	HIG	HB111	10 µg	548,000원
pNCMO2 DNA	HIG	HB112	10 µg	548,000원
pNY326-BLA DNA	HIG	HB114	1 µg	311,000원
pNC-HisT DNA	HIG	HB121	10 µg	548,000원
pNC-HisF DNA	HIG	HB122	10 µg	548,000원
pNC-HisE DNA	HIG	HB123	10 µg	548,000원
pNC-HisE DNA	HIG	HB123	10 µg	548,000원
Brevibacillus Competent Cells	HIG	HB116	10 µg × 10	488,000원

### ■ 내용

Brevibacillus Expression System II (Code HB200)

#### • 발현 vector

- pNY326 DNA (Code HB111)\* 10 µg
- pNCMO2 DNA (Code HB112)\* 10 µg
- Control vector
- pNY326-BLA DNA (Code HB114)\* 1 µg
- Competent cell
- Brevibacillus Competent-Cells (Code HB116)\* 100 µl × 10

\*별도구매 시 제품코드

### ■ 보존

- Expression vector pNY326 DNA, pNCMO2 DNA - 20°C
- Control vector pNY326-BLA DNA - 20°C
- Competent cell Brevibacillus Competent-Cells - 80°C
- His tag 용합 발현 vector pNC-HisT DNA, pNC-HisF DNA, pNC-HisE DNA - 20°C

### ■ 제품설명

Brevibacillus (*Bacillus brevis*) 발현 시스템은 고효율 분비 발현을 특징으로 하는 단백질 생산능력이 뛰어난 시스템이다. 본 균은 그림 양성의 세균으로 단백질을 대량으로 분비 생산하는 특징을 가지고 있다. 이러한 특징을 살려 지금까지 다수의 이종 단백질 생산에 성공해 왔다. 본 시스템에는 아래와 같은 특징이 있다.

- 대량의 단백질을 균체 외로 분비 생산한다.
- protease 활성을 거의 나타내 보이지 않는다.
- 활성형의 단백질을 생산한다.
- 배양, 멸균이 용이
- 유전자 조작이 간단
- 안전한 기주를 사용

본 시스템을 이용해 효소, 항원, cytokine 등을 고발현시켰을 때 모두 활성이 있는 것을 확인하였다. 또한, 박테리아, 고세균, 진핵생물 유래의 단백질 생산에도 적용할 수 있으며, 유전자의 유래와 관계없이 높은 효율을 나타내고 있다. 특히, 진핵생물 유래의 분비 단백질은 통상 S-S 결합을 포함하는 구조를 가지고 있어, 다른 원핵생물의 발현계에서는 일반적으로 생산이 어렵다. 하지만 본 시스템을 이용하면 분비 생산이라고 하는 특징으로부터 S-S 결합을 가지는 단백질에서도 효율적으로 생산할 수 있는 것이 확인되고 있다.

본 숙주는 electroporation에 의한 형질 전환 효율이 높기 때문에 유전자 조작을 간단하게 실시할 수 있다. 대장균 shuttle vector를 이용하여 발현벡터를 대장균 내에서 구축하는 방법 또는 ligation DNA를 직접 발현숙주에 도입할 수 있다. 시험관이나 플라스크를 이용하여 진탕 배양한 후 배양상등액을 원심분리하여 간단하게 목적 단백질을 얻을 수 있다. 균체를 파쇄하지 않기 때문에 원심분리에 의해 균체만 제거하는 간단한 과정으로 맑고 깨끗한 상등액으로부터 목적 단백질을 얻을 수 있고, 이후 정제 과정이 편리하다.

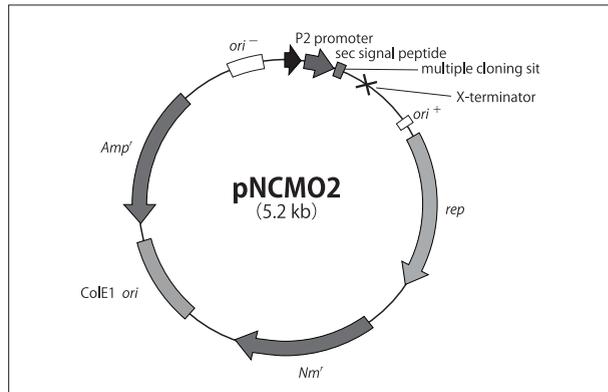
### ■ Brevibacillus 발현 시스템의 개요

#### 1. 발현 vector의 선택

##### (1) pNCMO2 DNA

pNCMO2는 *Brevibacillus*와 대장균의 shuttle vector로 대장균 내에서 발현시키고자 하는 유전자가 포함된 plasmid를 구축한 후, *Brevibacillus*에 도입하여 발현 실험에 이용할 수 있다. pNCMO2의 expression promoter에는 숙주의 세포벽 단백질 유래의 P2 promoter를 이용하기 때문에 대장균내에서는 작동하지 않아 목적 유전자의 cloning에 유리하다. 반면, *Brevibacillus* 내에서는 매우 강한 promoter로 작동하므로 효율적인 단백질 생산에 최적이다. 간혹 강력한 promoter 활성화로 인해 형질 전환체의 생육을 방해하는 경우가 있으므로 이러한 경우에는 pNY326 vector의 사용을 검토한다.

#### ■ pNCMO2 DNA의 구조

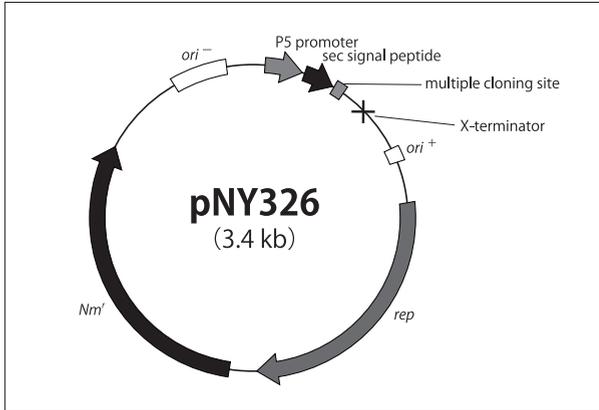


#### (2) pNY326 DNA

pNY326는 *Brevibacillus* 내에서 복제 가능한 plasmid로 크기가 비교적 작고(3.4 kb), pNCMO2보다 promoter 활성이 약해 숙주에서 매우 안정적으로 유전자 발현이 유지되므로, 발현산물이 숙주에 악영향을 미치는 경우 효과적이다. 이 vector를 이용하면 양호한 생육을 나타내어 생산량이 향상하는 경우도 있으며, 생산량의 변동이 적기 때문에 대규모의 배양에 적합하다. *Brevibacillus* 전용 vector로 *Brevibacillus*에서 직접 cloning 해야 한다. 높은 형질 전환 효율이 요구되기 때문에, 고효율의 electroporation용 competent cell (*Brevibacillus choshinensis* Electro-Cells) (10<sup>5</sup> transformants/µg DNA)의 이용을 추천한다.

#### ■ License Notice : [L39]

■ pNY326 DNA 의 구조



2. 발현 vector cloning

발현 vector에는 세포벽 단백질 유래의 분비 시그널이 포함되어 있어 분비 시그널의 절단부위 하류에 목적 유전자가 삽입되도록 설계한다. signal peptide 및 하류의 MCS에 2 종류의 제한 효소 부위를 이용하여 insert를 목적 방향으로 cloning 할 수 있다.

3. *Brevibacillus*의 형질전환

*Brevibacillus*은 electroporation법 (*Brevibacillus choshinensis* Electro-Cells)에 의해 형질전환하여 neomycin 으로 선별한다. shuttle vector를 이용해서 대장균으로 subcloning할 경우에는 ampicillin 내성유전자로 선별한다.

4. 단백질 생산 확인과 스케일 업

Negative control과 positive control (pNCMO2-BLA : *Bacillus licheniformis* 유래  $\alpha$ -amylase)을 이용해 목적 단백질의 발현을 확인한다. 목적 단백질을 발현하는 plasmid를 도입한 형질전환체를 선별하여 정해진 액체배지에 48-64 시간 진탕배양하는 것으로 목적단백질을 회수할 수 있다. 배양상등액을 SDS-PAGE 등으로 해석하여 단백질 발현 유무를 확인할 수 있다. 단백질발현 유무를 확인한 후에는 생산량이 높아지도록 배양량을 늘린다.

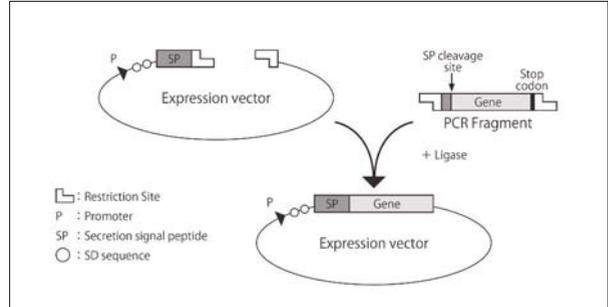
■ *Brevibacillus* His tag 융합 분비 발현 vector

pNC-HisT DNA, pNC-HisF DNA, pNC-HisE DNA는 모두 *Brevibacillus*와 대장균의 shuttle vector인 한편 분비 발현용 vector인 pNCMO2 DNA (TaKaRa Code HB112)를 부분적으로 변형한 vector이다. pNCMO2의 분비 시그널 하류에 His-tag 서열 (6×His 서열)과 tag의 제거를 위한 protease 인식 서열이 삽입된 구조이다. pNCMO2와 같이 대장균 내에서 유전자를 포함하는 plasmid를 구축한 후 *Brevibacillus*에 삽입하여 단백질 발현 실험을 진행할 수 있다.

His tag 서열 뒤에 pNC-HisT DNA는 Thrombin 서열이, pNC-HisF DNA는 Factor Xa 서열이, pNC-HisE DNA는 Enterokinase 서열이 포함되어 있어 목적 단백질에 맞는 최적의 vector를 선택할 수 있다.

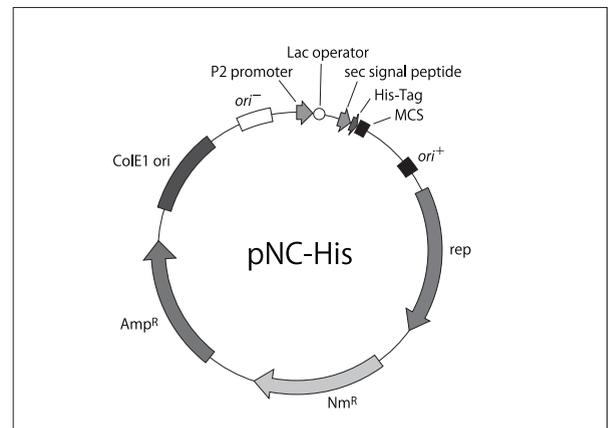
발현 promoter에는 pNCMO2와 같이 숙주 세포벽 단백질 유래의 P2 promoter를 이용하고 있다. P2 promoter는 대장균 내에서는 작동하지 않아 목적 유전자의 cloning에 유리하다. 반면, *Brevibacillus* 내에서는 매우 강한 promoter로 작동하므로 효율적인 단백질 생산에 최적이다.

간혹 강력한 promoter 활성으로 인해 형질 전환체의 생육을 방해하는 경우가 있으므로 이러한 경우에는 pNY326 vector (Code HB111)의 사용을 검토한다. (단, N-말단에 His-tag 도입은 할 수 없다.)



*B. choshinensis* 발현 vector의 구조

■ pNC-His DNA 구조



■ 사용상의 주의

*Brevibacillus* 발현 시스템 관련 제품은 Higeta Shoyu 사가 개발· 제조하고 Takara Bio가 판매하고 있습니다. 본 제품은 연구 목적으로만 사용이 허가되고 있으며, 제품 구입 시 라이선스 동의서를 작성해야 합니다. 라이선스에 관한 질문은 다카라코리아 고객센터(Tel. 02-2081-2510)로 문의주시기 바랍니다.

■ License Notice : [L39]

L-a

단백질 발현 시스템

# Brevibacillus Expression System Intracellular Expression Vectors

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pNI DNA	HIG	HB131	10 µg	548,000원
pNI-His DNA	HIG	HB132	10 µg	548,000원

## ■ 내용

### Intracellular expression vectors

pNI DNA	10 µg
pNI-His DNA	10 µg

## ■ 보존 - 20℃

## ■ 제품설명

*Brevibacillus* (*Bacillus brevis*) 발현 시스템은 생산물이 뛰어난 고효율 단백질 발현 시스템이다. 이 균은 그람 양성 균으로, 특히 대량의 단백질을 분비/생산하는 특징을 가지고 있다. 이러한 특징 때문에 지금까지 다수의 이중 단백질의 분비성 생산이 성공적으로 이루어졌다. 또한, 최근의 연구 결과에서 이 균은 분비성 단백질 생산뿐만 아니라 세포 내에서의 단백질 생산도 뛰어난 효율을 나타내었다. *E. coli* 에서 생산된 불용성 침전 단백질도 이 균에서 생산하면 수용성 상태로 회수할 수 있다. pNI DNA, pNI-His DNA는 *Brevibacillus* 내의 강력한 P2 프로모터를 이용한 세포 내 단백질 발현 vector이다. 이 시스템은 본래 세포 내에 만들어지는 기능성 단백질 발현에 사용을 권장하며, 대장균에서 단백질을 발현했을 때 불용성으로 발현되었거나, *in vitro* refolding 이 곤란한 경우에도 사용 권장한다.

본 시스템의 특징은 다음과 같다.

- 이중의 단백질을 균체 내에서 높은 효율로 수용성 형태로 생산한다.
- 배양, 멸균이 쉽다.
- 유전자 조작이 간단하다.
- 안전한 숙주

본 시스템의 숙주는 형질전환 효율이 높기 때문에 유전자 조작이 간단하다. 이 세균과 *E. coli* 사이에 shuttle vector로 이용하는 발현 벡터는 대장균 내에서 구축할 수 있다. 또한 N말단에 his-tag를 삽입한 vector(pNI-His DNA)를 이용하면 컬럼으로 간단하게 목적 단백질을 정제할 수 있고, enterokinase 처리를 통한 his-tag의 제거도 가능하다.

## ■ 사용상 주의사항

본 제품과 함께 사용하는 *Brevibacillus choshinensis* HPD31-SP3에는 *Saccharomyces cerevisiae* 유래 2µm 플라스미드 DNA의 부분 서열이 포함된다(Code HB200, HB116). 이들은 유전자 재조합 생물 등에 해당하며, 이에 따르는 법률 규정에 따라 이용하여야 합니다.

*Brevibacillus* 발현 시스템 관련 제품은 Higeta Shoyu Co.,Ltd가 개발·제조해, Takara Bio가 판매하고 있다. 본 제품은 연구 목적으로만 사용이 허가되고 있습니다.

제품 구입 시에 라이선스 동의서에 필요 사항을 기입한 후 주문시에 제출해야 하며, 본 동의서가 첨부되어 있지 않은 경우는 제품 출하를 할 수 없기 때문에 주의해 주십시오. 라이선스에 관한 질문은 다카라코리아로 연락해 주세요.

## ■ License Notice [L39]

## ■ Brevibacillus expression system Intracellular expression vectors 정보

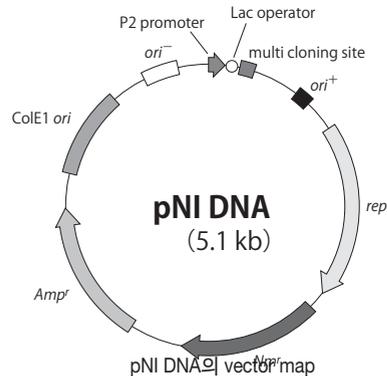
### 1. Expression vector 선택

#### 1) pNI DNA

pNI DNA는 분비성 발현 벡터인 pNCMO2 DNA (Code HB112)의 분비 시그널 부분을 제거해, 세포 내에 발현 생산물이 축적되도록 만들어진 세포 내 발현용 벡터이다. 그 이외의 기본적인 구조는 pNCMO2 DNA와 같다. 이 vector는 *Brevibacillus*와 *E. coli* 서플 벡터로, *E. coli*에서 expression plasmid를 구축 후 발현 분석을 위해 *Brevibacillus*로 이전 도입하여 사용할 수 있다. pNI DNA의 expression promoter는 숙주 세포벽 단백질 유래의 P2 promoter를 이용하고 있다. P2 promoter는 *E. coli*에서는 활성이 약하기 때문에, 목적 유전자의 cloning에 유용하다. 한편, *Brevibacillus*에서는 매우 강한 promoter 활성을 가지고 있다. 따라서 *Brevibacillus*에서 효율적인 단백질 생산에 적합하다.

#### 2) pNI-His DNA

pNI-His DNA는 니켈 킬레이트 레진으로 발현 산물을 간단하게 정제할 수 있는 세포 내 expression vector로써, His-tag (6×His) 서열과 tag 제거를 위한 enterokinase 인식 서열이 포함되어 있다. 그 외 vector 구조는 pNI DNA와 같다.



### 2. Expression vector로 cloning

pNI DNA의 경우는 *Nco I* 로 시작하는 multi cloning site(MCS)에 목적 단백질의 유전자를 삽입한다. 만약 *Nco* 제한효소 site를 사용할 수 없는 경우에는, MCS 서열에서 발현되는 아미노산이 목적 단백질에 추가되진 않지만, 사용하는 제한 효소 site에 따라 여분의 아미노산이 N말단에 추가된다.

pNI-His DNA의 경우에는 목적 단백질의 유전자는 *BamH I* 이후의 위치에 삽입한다.

### 3. Brevibacillus 형질전환

*Brevibacillus*의 형질전환은 electroporation으로 할 수 있다. 선택 표지는 neomycin resistance gene을 사용한다. Shuttle vector로 *E. coli*에서 사용할 경우에는, ampicillin resistance gene을 사용할 수 있다.

### 4. 발현산물 검출과 스케일업

Negative control을 동시에 배양해 원하는 목적 단백질의 발현을 확인한다. 목적 단백질 유전자가 도입된 형질 전환체를 액체 배양 배지에서 48-64시간 동안 진탕 배양시켜 목적 단백질을 얻을 수 있다. 배양 산물을 SDS-PAGE등으로 발현의 유무를 확인할 수 있다. 많은 생산량이 필요한 경우에는 *Brevibacillus*가 대규모 배양이 비교적 용이하기 때문에 스케일업하여 배양하면 된다.

L-a

단백질 발현 시스템

# Chaperone Plasmid Set

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Chaperone Plasmid Set	TKR	3340	1 kit	327,000원

### ■ 내용

Plasmid	농도	용량	Chaperone	Promoter	Inducer	Selection Marker
pG-KJE8	10 ng/μl	100 μl	<i>dnaK-dnaJ-grpE</i> <i>groES-groEL</i>	<i>araB</i> <i>Pzt1</i>	L-Arabinose Tetracyclin	Cm
pGro7	10 ng/μl	100 μl	<i>groES-groEL</i>	<i>araB</i>	L-Arabinose	Cm
pKJE7	10 ng/μl	100 μl	<i>dnaK-dnaJ-grpE</i>	<i>araB</i>	L-Arabinose	Cm
pG-Tf2	10 ng/μl	100 μl	<i>groES-groEL-tig</i>	<i>Pzt1</i>	Tetracyclin	Cm
pTf16	10 ng/μl	100 μl	<i>tig</i>	<i>araB</i>	L-Arabinose	Cm

■ 보존 -20℃

### ■ 제품설명

대장균으로 단백질을 발현시켰을 경우 발현된 단백질이 inclusion body를 형성하거나 protease에 의해 분해되는 경우를 자주 볼 수 있다. 이는 발현된 단백질이 정확하게 folding 되지 않을 경우 일어나는 것으로 단백질 기능 연구에 큰 장애가 되고 있다.

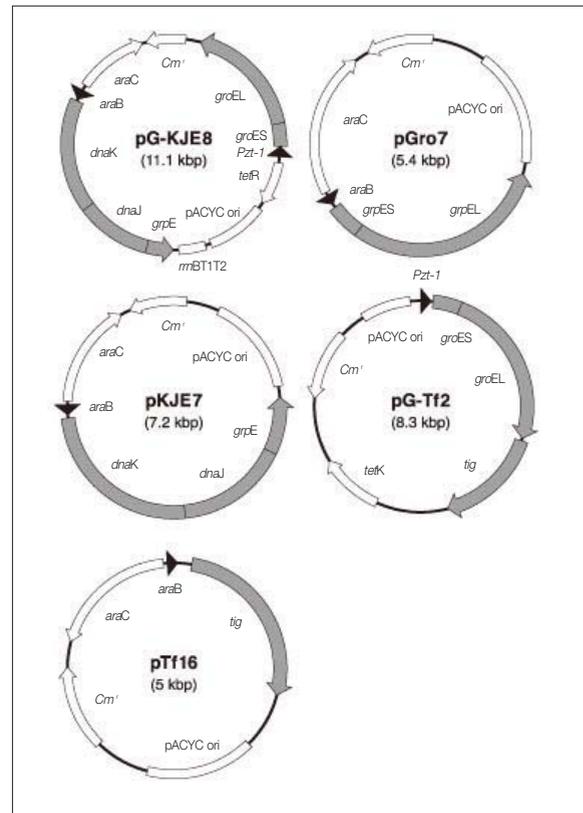
단백질의 folding 에는 이를 도와주는 chaperone이 필요하며, *in vitro*에서 단백질의 folding 을 규명하기 위한 다양한 연구가 이루어지고 있다. 본 세트에 포함된 5 종류의 plasmid는 HSP 연구소에서 개발된 것으로 단백질의 접힘에 공동 역할을 한다고 알려져 있는 복수의 chaperone이 각각 하나의 plasmid 상에 코드되어 chaperone 팀으로서 효율적으로 발현되도록 설계되고 있다.

이러한 chaperone과 단백질을 co-expression시켜 기존의 inclusion body를 형성하고 있던 단백질을 가용화하여 회수 효율을 높일 수가 있다.

### ■ 사용상의 주의

1. 본 chaperone plasmid는 pACYC의 복제 기점 및 chloramphenicol 내성 유전자 (Cm<sup>r</sup>유전자)를 이용하고 있다. 범용되고 있는 ColE1 타입의 ampicillin 내성 유전자를 마커로 한 대장균 발현계에는 같이 사용할 수 있지만, Cm<sup>r</sup> 유전자를 포함한 plasmid 나 chloramphenicol 내성을 나타내는 대장균 속주에는 이용할 수 없다. 예를 들면 pET system 등으로 이용되는 *E. coli* BL21(DE3)는 숙주로서 사용할 수 있지만, Cm<sup>r</sup> 유전자가 삽입되어 pACYC의 복제 기점을 가지는 pLysS를 보존하고 있는 *E. coli* BL21 (DE3) pLysS는 이용할 수 없다.
2. 본 제품은 목적 단백질과 chaperone과의 co-expression를 구축하고 있기 때문에 chaperone plasmid로 형질 전환한 대장균을 제작하고, 목적 단백질의 발현 plasmid로 형질전환하는 2단계 방법을 추천하고 있으므로, chaperone plasmid로 형질 전환한 대장균으로부터 competent cell을 조제할 필요가 있다.

### ■ Chaperone Plasmid의 구조



■ License Notice : [M7, M8]

# Chaperone Competent Cell BL 21 시리즈

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Chaperone Competent Cells BL21 Set	TKR	9120	100 $\mu$ l $\times$ 3 개 $\times$ 6 종류	666,000원
Chaperone Competent Cell pG-KJE8/BL21	TKR	9121	100 $\mu$ l $\times$ 10 개	333,000원
Chaperone Competent Cell pGro7/BL21	TKR	9122	100 $\mu$ l $\times$ 10 개	333,000원
Chaperone Competent Cell pKJE7/BL21	TKR	9123	100 $\mu$ l $\times$ 10 개	333,000원
Chaperone Competent Cell pG-Tf2/BL21	TKR	9124	100 $\mu$ l $\times$ 10 개	333,000원
Chaperone Competent Cell pTf16/BL21	TKR	9125	100 $\mu$ l $\times$ 10 개	333,000원
TaKaRa Competent Cell BL21	TKR	9126	100 $\mu$ l $\times$ 10 개	333,000원

## ■ 내용

### Chaperone Competent Cells BL21 Set (Code 9120)

Chaperone Competent Cell pG-KJE8/BL21	100 $\mu$ l $\times$ 3개
Chaperone Competent Cell pGro7/BL21	100 $\mu$ l $\times$ 3개
Chaperone Competent Cell pKJE7/BL21	100 $\mu$ l $\times$ 3개
Chaperone Competent Cell pG-Tf2/BL21	100 $\mu$ l $\times$ 3개
Chaperone Competent Cell pTf16/BL21	100 $\mu$ l $\times$ 3개
TaKaRa Competent Cell BL21	100 $\mu$ l $\times$ 3개
pUC19 DNA (0.1 ng/ $\mu$ l)	10 $\mu$ l $\times$ 17개
SOC 배양	1 ml $\times$ 20개

## ■ 보존 - 80°C

## ■ 제품설명

본 제품은 Chaperone Plasmid Set (Code 3340)에 포함되는 5 종류의 chaperone plasmid로 각각 형질 전환한 대장균 BL21의 competent cell이다. 본 제품에 있는 5 종류의 plasmid (pG-KJE8, pGro7, pKJE7, pG-Tf2, pTf16)는 단백질의 folding에 관여한다고 알려져있는 복수의 chaperone이 각각 하나의 plasmid 상에 코딩되어 chaperone 팀으로서 효율적으로 발현되도록 설계되어 있다. 이러한 chaperone 팀의 어느 쪽이든 목적 단백질을 co-expression시키는 것으로 발현 단백질의 solubility를 촉진할 수가 있다.

대장균 BL21주는, *lon* protease, *ompT* 외막 단백질 분해효소가 결손된 B주 유래의 균주로 발현된 단백질의 안정성을 향상시키기 때문에 재조합 단백질의 발현에 넓게 이용되고 있다.

일반적으로 chaperone plasmid를 이용하여 목적 단백질과 chaperone 팀과의 co-expression을 하려면, chaperone plasmid로 host 대장균을 형질 전환하여, 이 형질 전환체를 이용하여 competent cell을 제작하고, 목적 단백질을 발현하는 plasmid를 이용하여 형질 전환을 해야한다.

본 제품은 chaperone plasmid로 형질 전환한 BL21주로부터 조제한 competent cell로, 한 번의 형질 전환으로 간단하게 목적 단백질과 chaperone 팀과의 co-expression 대장균을 얻을 수 있다. chaperone plasmid 5 종류의 competent cell로 컨트롤용으로서 chaperone plasmid를 포함하지 않는 BL21 주의 competent cell도 준비되어 있다. 본 제품은 Cold Shock 발현 vector pCold DNA 시리즈 (Code 3360-3364)와 같이 사용하여 높은 효과를 기대할 수 있으며, 본 제품의 숙주에 이용하고 있는 BL21주는 T7 RNA Polymerase를 발현하고 있지 않기 때문에, pET 시스템 등의 T7 promoter를 이용한 발현계에는 사용할 수 없다. 본 제품은 electroporation에는 사용할 수 없습니다.

## ■ 사용상의 주의

본 제품 중 chaperone plasmid pG-KJE8, pGro7, pKJE7, pTf16를 보존하고 있는 대장균에는 *Salmonella typhimurium araB* promoter가 포함되어 있다. (Code 9120, 9121, 9122, 9123, 9125).

## ■ License Notice : [M7]

L-a

분자생물학 실험용 시약

## ProEasy™ Baculovirus vector

제품명	제조사	제조사 Code	TaKaRa Code	용량	가격
ProEasy	ABV	A10S	AV109	25 $\mu$ l	가격문의
ProEasy	ABV	A10L	AV110	125 $\mu$ l	가격문의

### ■ 내용

ProEasy (Code AV109)	25 $\mu$ l (0.1 $\mu$ g DNA/ $\mu$ l)
ProEasy (Code AV110)	125 $\mu$ l (0.1 $\mu$ g DNA/ $\mu$ l)

### ■ 보존 4℃

### ■ 제품설명

ProEasy는 재조합 baculovirus 순화를 위한 plaque assay가 불필요하며, 계대 배양을 하거나 스케일 업을 실시하여도 안정한 virus 역가를 유지할 수 있는 AcMNPV 유래의 linearized baculovirus genomic vector DNA이다. Plaque assay를 실시할 필요가 없기 때문에 바이러스 제작에 필요로 하는 시간을 단축할 수 있으므로, 단기간에 복수의 재조합 baculovirus 제작을 필요로 하는 HTS application에 유용하다. Plaque assay가 불필요한 기존의 재조합 virus 제작 방법은 곤충 세포를 이용하지 않고 대장균내의 bacmid DNA에 서열 특이적 transposition을 이용해 재조합 baculovirus DNA 제작 방법이 알려져 있어 시간 단축의 장점이 있지만,

- (1) 사이즈가 큰 재조합 bacmid DNA의 정제 작업에 시간이 든다.
- (2) 제작한 재조합 baculovirus 계대를 반복하거나 스케일 업 수행시 목적 유전자의 결핍이 일어나기 쉽다.

는 단점이 있었다 (Journal of General Virology, 84, 2669-2678, 2003). 이런 문제점에 대해서 ProEasy 재조합 virus 제작 방법은 종래법대로 곤충 세포내에서 AcMNPV polyhedrin 부위에서 상동 유전자 재조합을 실시하지만, linearized 처리(제한효소 Bsu36 I digestion) 전의 AcMNPV genome상의 polyhedrin 부위에  $\beta$ -GAL 유전자 대신 lethal gene이 삽입되어 있어, 비록 절단되지 않은 AcMNPV genome이 남아 있다고 해도 false positive recombinant의 발생이 없다. 이 때문에 plaque assay에 의한 순화 작업이 불필요하다. 이러한 이유 때문에 재조합 virus 제작에 걸리는 시간을 단축할 수 있고, 계대를 반복하거나 스케일 업을 하여도 유전자 결핍이 원인이 되는 virus 역가 저하가 일어나지 않고 안정인 상태의 바이러스 stock을 유지할 수 있다. ProEasy baculovirus DNA에 목적 유전자의 재조합에는 일반적으로 많이 사용되고 있는 AcMNPV polyhedrin 부위 상동 재조합용 transfer vector를 이용할 수 있다.

# ProFold™ Baculovirus vector

제품명	제조사	제조사 Code	TaKaRa Code	용량	가격
ProGreen	ABV	A1	AV100	2.5 ㎍	가격문의
ProFold-C1	ABV	A2	AV101	2.5 ㎍	가격문의
ProFold-C2	ABV	A3	AV102	2.5 ㎍	가격문의
ProFold-ER1	ABV	A4	AV103	2.5 ㎍	가격문의
ProFold-PDI	ABV	A7	AV106	2.5 ㎍	가격문의
ProFold-PDI*	ABV	A8	AV107	2.5 ㎍	가격문의
ProFold-0	ABV	A9	AV108	2.5 ㎍	가격문의

### ■ 제품 설명

Recombinant baculovirus를 이용한 단백질 발현계는 여러가지 장점을 갖고 있어 포유동물 유래 단백질의 대량 발현계로 구조 해석 연구나 기능 해석 연구에 응용되고 있다. 그러나, 세포 내에서 over-expression에 의해 mis-fold한 목적 단백질이 inclusion body를 형성해 응집하거나 효소 분해가 되는 사례가 자주 있다. 이러한 원인의 상당수는 세포 내의 분자 chaperone의 고갈이 원인인 것으로 생각되고 있다.

ProFold vector는 Clontech사의 AcNPV 유래 BacPAK6 Viral DNA (*Bsu* 36 I digest)를 기본으로 상기 문제를 해결하기 위해서 개량한 vector이다. 본 vector는 바이러스 감염 말기에 대량 발현하는 핵다각체 주요 구성 물질 polyhedron site를 코드하는 virus genome 부위를 제한 효소 *Bsu* 36 I으로 절단 처리해 선상화하고, 인간 유래 (일부 효모 유래) 분자 chaperone을 코드하는 유전자가 포함되어 있다.

ProFold-C1, ProFold-C2는 세포질 내의 주요한 분자 chaperone인 human 유래 Hsc70/Hsp40를 발현하는 vector 이며, 목적 단백질이 세포질에 위치하는 경우에 최적이다.

ProFold-ER1는 calreticulin 및 PDI (protein disulfide isomerase)가 코드되어 있고, 막단백질, 분비 단백질, 혹은 cystein-rich 단백질 등 ER 이동성 당단백질의 발현에 최적이다.

또, ProGreen, ProFold-C1, ProFold-C2, ProFold-ER1에는 *Aequorea Victoria* 유래의 녹색 형광 단백질인 GFP를 마커로 발현하므로, 바이러스 증식 모니터링, 배양 조건의 최적화에 유용하다.

### ■ 보존 - 20℃

### ■ 특징

- Chaperone으로 가용성과 회수율을 대폭 향상
- 목적 단백질의 localization에 따른 vector 선택 가능
- GFP로 역가측정, 증식 모니터링이 가능
- 일반적인 전달 vector (transfer vector)로 이용이 가능

### ■ 각 vector에 탑재되는 마커, 분자 chaperone 등의 기능 단백질의 편성과 발현 레벨

마커 또는 사페론 종류		GFP	$\beta$ -gal	Hsc70	Hsp40	Calreticulin	PDI
역할		증식 모니터링, 역가측정에 이용	Plaque assay에 이용	세포질내 사페론	세포질내 사페론	ER 내강으로의 당단백질의 폴딩	ER로의 disulfide bond의 재조합
제품명	Code	Protein Expression Level					
ProGreen	AV100	+++	+++++				
ProFold-C1	AV101	+++	+++++	+++	++		
ProFold-C2	AV102	+++	++++	+++	+++++		
ProFold-ER1	AV103	+++	+++++			+++	++++
ProFold-PDI	AV106		+++++				++++
ProFold-PDI*	AV107		+++++				+
ProFold-0	AV108		+++++				

# Transfer vector

제품명	제조사	제조사 Code	TaKaRa Code	용량	가격
pVL1393	ABV	B1	AV200	25 $\mu$ g	가격문의
pAcAB3	ABV	B2	AV201	25 $\mu$ g	가격문의
pAB-bee	ABV	B3	AV202	25 $\mu$ g	가격문의
pAB-bee-8xHis	ABV	B3H	AV203	25 $\mu$ g	가격문의
pAB-bee-FH	ABV	B3FH	AV204	25 $\mu$ g	가격문의
pAB-6xHis	ABV	B4	AV205	25 $\mu$ g	가격문의
pAB-GST	ABV	B5	AV206	25 $\mu$ g	가격문의
pAB-MBP	ABV	B6	AV207	25 $\mu$ g	가격문의
pAB-6xHis-MBP	ABV	B7	AV208	25 $\mu$ g	가격문의
pVL-GFP	ABV	B8	AV209	25 $\mu$ g	가격문의
pVL-FH	ABV	B9	AV210	25 $\mu$ g	가격문의

### ■ 제품 설명

본 제품은 목적 유전자를 클로닝 후 ProFold Baculovirus DNA(AcMNPV)와 함께 곤충 세포주(Sf9, Sf21등)에 co-transfection 하는 것으로, polyhedron부위에서 상동 재조합에 의한 유전자 재조합 baculovirus를 고효율로 제작할 수 있는 transfer vector이다. 목적 유전자는 재조합 baculovirus가 곤충 세포 감염 말기에 대량의 목적 단백질 발현을 유도하는 강력한 polyhedrin promoter 또는 p10 promoter에 의해 발현된다. 동시에 발현시키고 싶은 목적 단백질의 수, ER수송의 필요성, tag 필요성 등에 의해 11 종류의 transfer vector중에서 최적의 vector를 선택할 수 있다.

pAcAB3는 polyhedrin promoter 또는 p10 promoter로 발현되는 최대 3개의 목적 단백질을 하나의 재조합 baculovirus에서 발현시키는 것이 가능하기 때문에, subunit을 구성하는 단백질 발현에 이용할 수 있다. pAB-bee계 vector는 honeybee melittin signal sequence를 목적 단백질의 N말단에 부가하기 때문에 Sf(*Spodoptera frugiperda*) 세포 내에서 ER로 수송이 가능한, ER수송성 분비 단백질, 막단백질의 발현에 유용하다. pAB-GST, pAB-MBP, pAB-6 xHis-MBP는 가용성 태그(glutathione S-transferase 혹은 maltose 결합 단백질)를 융합 발현하는 것으로, 목적 단백질의 가용성과 수율의 향상을 기대할 수 있다. pAB-bee-FH, pVL-FH는 C말단 측에 FLAG-8 x His 태그를 융합 발현하는 것으로, 친수성이 높은 FLAG 펩타이드가 FLAG-8 x His 태그의 단백질 표면에 노출을 촉진해, His-tag 정제를 용이하게 하는 것과 동시에 FLAG 태그를 epitope로 한 고감도 검출을 가능하게 한다.

### ■ 사용상 주의사항

본 제품에는 실험 프로토콜이 첨부되어 있지 않으므로 양해 바랍니다. 유전자 상동 재조합법에 따르는 일반적인 실험 프로토콜 이용의 경우는 Clontech사 BacPAK Baculovirus Expression System의 실험 프로토콜을 참조 하세요.

L-a

단백질 발현 시스템

제품명	Code	플라스미드 길이	개 요
pVL1393	AV200	9,639 bp	일반적인 transfer vector, Polyhedrin 프로모터 제어 하에 목적 단백질을 클로닝할 수 있다.
pAcAB3	AV201	10,096 bp	목적 단백질을 3개까지 발현할 수 있다. Polyhedrin 프로모터 제어 하에 1개 및 2개, p10 프로모터 제어 하에 1개씩 최대 3개의 목적 유전자를 클로닝할 수 있다
pAB-bee	AV202	9,932 bp	ER수송성의 분비 단백질, 막단백질 발현용. Polyhedrin 프로모터 하류에 honeybee melittin signal sequence, MCS, 8xHis 태그 서열을 가진다.
pAB-bee-8xHis	AV203	9,965 bp	ER수송성의 분비 단백질, 막단백질 발현용. Polyhedrin 프로모터 하류에 honeybee melittin signal sequence, 8xHis 태그 서열, MCS, 8xHis 태그 배열을 가진다.
pAB-bee-FH	AV204	9,783 bp	ER수송성의 분비 단백질, 막단백질 발현용. Polyhedrin 프로모터 하류에 honeybee melittin signal sequence, MCS, FLAG 태그 서열, 8xHis 태그 서열을 가진다.
pAB-6xHis	AV205	9,698 bp	Polyhedrin 프로모터 하류에 6xHis 태그 서열, Thrombin 절단 부위, MCS를 가진다
pAB-GST	AV206	10,355 bp	Polyhedrin 프로모터 하류에, GST 서열, MCS를 가진다.
pAB-MBP	AV207	10,793 bp	Polyhedrin 프로모터 하류에, MBP 서열, Thrombin 절단 부위 내재 MCS를 가진다.
pAB-6xHis-MBP	AV208	10,833 bp	Polyhedrin 프로모터 하류에, 6xHis 태그 서열, MBP 서열, Thrombin 절단 부위 내재 MCS를 가진다.
pVL-GFP	AV209	10,371bp	Polyhedrin 프로모터 하류에, MCS, GFP 형광 단백질 서열을 가진다.
pVL-FH	AV210	9,723 bp	Polyhedrin 프로모터 하류에, MCS, FLAG 태그 서열, 8xHis 태그 서열을 가진다. .

## FoldHelper™ Helper Baculovirus

제품명	제조사	제조사 Code	TaKaRa Code	용량	가격
FoldHelper-ER3	ABV	H6	AV400	2 ml, 5 × 10 <sup>7</sup> pfu/ml	가격문의
FoldHelper-104	ABV	H15	AV401	1 ml, 10 <sup>8</sup> pfu/ml	가격문의
FoldHelper-104P	ABV	H16	AV402	1 ml, 10 <sup>8</sup> pfu/ml	가격문의
FoldHelper-57P	ABV	H17	AV403	1 ml, 10 <sup>8</sup> pfu/ml	가격문의
FoldHelper-37	ABV	H18	AV407	1 ml, 10 <sup>8</sup> pfu/ml	가격문의

### ■ 제품설명

FoldHelper virus 시리즈는 특정 분자 chaperone을 발현하는 AcNPV 유래 recombinant baculovirus이다. Baculovirus(AcNPV)는 곤충 세포 발현계를 이용하여 목적 단백질을 세포 내에서 over-expression 하기 위한 시스템으로 간혹 inclusion body를 형성하여 기대하는 발현량을 얻을 수 없는 경우가 있다. 이러한 경우 FoldHelper 바이러스를 이용하여 적절한 chaperone을 함께 발현시킨다. 목적 단백질과 함께 FoldHelper 바이러스를 co-infection 시키는 것으로 간편하게 이용할 수 있다.

■ 보존 4℃

### ■ 특징

- GFP 마커 : 바이러스 증식을 모니터링
- Calreticulin : ER에서의 당단백질 folding에 관여
- PDI : Cycteine-rich protein의 folding에 관여
- Peptidyl-prolyl cis-trans isomerases (PPIs) : proline-rich protein에 존재하는 imide bond의 isomerization 촉진

### ■ FoldHelper와 발현하는 Molecule Chaperone, Reporter protein의 종류와 발현 레벨

Reporter 또는 molecular chaperone의 종류		GFP	β - gal	Hsp104	ERp57	Calreticulin	PDI	CyclophilinB	Cdc37
역할		증식 모니터링, 역기측정에 이용	Plaque assay에 이용	세포질의 inclusion body의 재생	ER내강으로의 disulfide bond	ER 내강으로의 당단백질의 folding 형성	ER 내강으로의 disulfide bond 형성	PPI활성에의한 imide bond의 이성질체화	Kinase와 상호작용해 세포질중 Hsp90의 co-chaperon으로 작용
제품명	Code	단백질 발현 레벨							
FoldHelper-ER3	AV400	++	++			++	+	++	
FoldHelper-104	AV401			++					
FoldHelper-104P	AV402			++			++++		
FoldHelper-57P	AV403				+++		++++		
FoldHelper-37	AV407								++++

L-a

단백질 발현 시스템

## Control Baculovirus

제품명	제조사	제조사 Code	TaKaRa Code	용량	가격
NC (negative control)	ABV	C13	AV300	1 ml, 10 <sup>8</sup> pfu/ml	가격문의
GC (green control)	ABV	C14	AV301	1 ml, 10 <sup>8</sup> pfu/ml	가격문의
GCP (green control plasmid)	ABV	C15	AV302	50 µl, 10 <sup>8</sup> pfu/ml	가격문의

### ■ 제품설명

NC (negative control)은 recombinant baculovirus감염에 의한 단백질 발현 실험의 negative control 바이러스이다. 음성 대조군으로서 baculovirus 비감염 세포가 자주 이용되지만 baculovirus가 감염된 세포는 숙주 세포의 발현 프로파일을 변화시키거나 비감염세포에서는 볼 수 없는 baculovirus 유래 단백질이 존재하기 때문에 비감염세포를 음성 대조군으로서 사용하는 것을 권장하지 않는다. 따라서, NC (negative control)는 baculovirus 감염에 의한 단백질 연구에 적합한 negative control이다.

### ■ 보존

AV300,301 4℃  
AV302 -20℃

### ■ 특징

- 목적 단백질 발현시 negative control로 이용
- recombinant baculovirus가 접종된 cell의 SDS-PAGE 시 함께 전기영동하여 비교가능

### GC (Green Control) :

GC (Green Control)는 *Aequorea Victoria* 유래 green-fluorescent protein (GFP)를 발현하는 negative control로, 바이러스 증식의 모니터링이나 배양 조건의 최적화, 역가측정 등에 이용하는 경우의 positive control로 사용할 수 있다.

### GCP(green control plasmid) :

GCP(green control plasmid)는 AcMNPV polyhedron-promoter에 의한 *Aequorea victoria* 유래 green fluorescent protein (GFP) 유전자를 코드 하는 plasmid transfer vectorNA이다. ProEasy, GFP를 코드 하고 있지 않는 ProFold 시리즈 (ProFold-0, ProFold-PDI, ProFold-PDI\*), Clontech BacPAK6, BD BaculoGold 등의 AcMNPV 유래 linearized baculovirus DNA와 함께 곤충 세포 내에 co-transfection하여, polyhedrin 부위에서의 상동 재조합이 성공하면 GFP를 만들게 되므로 co-transfection의 positive control로 이용할 수 있다.

## In vivo 유전자 도입용 vector

## pLIVE™ Vector 시리즈

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
pLIVE Vector	MIR	MIR 5420	20 µg	가격문의
pLIVE Vector/lacZ Control Vector Kit	MIR	MIR 5520	각 20 µg	가격문의
pLIVE Vector/SEAP Control Vector Kit	MIR	MIR 5620	각 20 µg	가격문의
pLIVE Vector Complete System (All 3 Vectors)	MIR	MIR 5320	각 20 µg	가격문의

### ■ 내용

#### pLIVE Vector/lacZ Control Vector Kit

pLIVE Vector	20 µg
pLIVE-lacZ Vector	20 µg

#### pLIVE Vector/SEAP Control Vector Kit

pLIVE Vector	20 µg
pLIVE-SEAP Vector	20 µg

#### pLIVE Vector Complete System

pLIVE Vector	20 µg
pLIVE-lacZ Vector	20 µg
pLIVE-SEAP Vector	20 µg

### ■ 보존 - 20℃

### ■ 제품설명

pLIVE (Liver In Vivo Expression) Vector는 mouse의 꼬리정맥 주사를 통해 mouse 간에서 in vivo 상태로 장기간 유전자를 발현시키기 위해 설계된 발현벡터이다. 본 vector는 minimal mouse albumin promoter와 mouse alpha fetoprotein enhancer II로 구성된 chimera promoter 및 2 개의 intron이 발현 vector 내에 설계되어 있어 CMV promoter등의 일반적인 promoter를 포함하는 vector에 비해 간 내에서 장기간 높은 레벨로 발현이 가능하다. pLIVE Vector 시리즈에는 reporter 유전자를 포함하는 pLIVE-lacZ Vector와 pLIVE-SEAP Vector도 있다.

### ■ 농도 1 mg/ml

# 단백질 Refolding

Inclusion body refolding 조건 검토용 Kit

## Refolding CA Kit

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Refolding CA Kit	TKR	7350	25 회	466,000원
Refolding CA Large Kit	TKR	7351	1 kit	2,513,000원

### ■ 내용

#### Refolding CA Kit (Code 7350)

8 M Guanidine hydrochloride	1 ml × 2
4 M Dithiothreitol (DTT)	50 $\mu$ l
1% Tween 40	1 ml × 2
1% Tween 60	1 ml × 2
1% CTAB	1 ml × 2
1% SB3-14	1 ml × 2
200 mM DL-Cysteine	0,75 ml × 2
3% Cycloamylose (CA)	1,6 ml × 7

#### Refolding CA Large Kit (Code 7351)

3% Cycloamylose (CA)	20 ml × 6
8 M Guanidine hydrochloride	10 ml × 2

■ 보존 - 20℃

### ■ 제품설명

재조합 유전자를 대장균 등 미생물에서 발현시킨 경우 활성을 가진 가용성의 단백질만 생성되는 것이 아니라 세포 내에 불용화한 inclusion body가 축적되는 경우가 있다. 이 경우 단백질 활성 회복을 위하여 요소나 guanidine과 같은 변성제로 inclusion body를 unfolding 시킨 후 투석 또는 희석하여 변성제를 제거하고 refolding 시키는 방법이 일반적으로 이용되고 있다.

일반적인 방법으로 refolding시키는 것은 많은 시간과 노력이 소요되고 refolding 효율이 낮은 경우가 많다. 최근 refolding 조작을 2 단계로 나누어 각 단계에 적합한 2 종류의 화합물을 사용하여 재생 효율을 높이는 방법이 보고되고 있다.

Refolding CA Kit는 2 단계의 조작을 통하여 inclusion body를 형성한 재조합 단백질의 효율적인 refolding 조건을 검토하기 위한 kit이다. 4 종류의 계면활성제와 고중합도 cycloamylose (이하 CA)의 조합에 의해 refolding 조건을 검토할 수 있다. refolding CA Large Kit는 Refolding CA Kit로 조건 검토를 한 후 스케일업하여 재생 조작하는 경우 등에 이용할 수 있다.

### ■ 특징

본 키트의 CA는 cyclodextrin보다 우수한 재생 능력을 나타낸다고 보고되어 있다. 본 제품은 25 시료의 refolding 조건을 검토할 수 있다. 또 계면활성제 및 CA는 50회의 동결·융해에도 안정하다 (단, CA 용액에 미생물 및 amylase가 혼입되면 환형이 깨져 refolding 능력이 저하되므로 주의한다). 또한, 모든 조작이 1,5 ml의 튜브 안에서 이루어지므로 신속 간편하게 refolding 조건을 검토할 수 있다.

### ■ 원리

계면활성제를 단백질의 변성용액 내에 첨가하여 변성제의 농도를 희석하고 단백질 분자 간의 응집을 방지한다. 계속하여 CA를 첨가하고 그 refolding 능력으로 단백질-계면활성제 복합체로부터 계면활성제를 제거함으로써 단백질 활성을 가진 고차구조로 refolding 시킨다.

■ License Notice : [L22, L23]

L-b

단백질 Refolding

## Corystein™ (Purothionin)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Corystein (Purothionin)	TKR	7311	5 mg	314,000원

- **형상** 동결건조품
- **순도** 역상계 HPLC로 95% 이상
- **보존** 4℃
- **제품설명**

다수의 단백질의 활성 발현에는 정확한 disulfide 결합 형성에 의한 입체구조의 구축이 필요하다. 이는 대부분의 경우 번역 후의 효소반응에 의해 이루어지며, thioredoxin이 그 활성을 갖고 있다고 알려져 있다. 그러나, thioredoxin은 그 기원에 따라 목적 단백질이 달라 disulfide 결합을 교정할 수 있는 단백질이 한정되어 있다.

Corystein은 소맥분으로부터 정제된 purothionin이라고 불리는 polypeptide로 thioredoxin과 유사한 활성을 갖는다. 시금치의 fructose-1, 6-bisphosphatase에 대하여 대장균 thioredoxin보다 훨씬 높은 활성 등을 갖고 있으며, 또 thioredoxin과의 병용에 의한 상승효과가 보고되어 있다.

- **유래**  
Wheat flour
- **용도**  
단백질의 disulfide 결합교정에 의한 활성화

## Protein Disulfide-Isomerase (PDI)

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Protein Disulfide-Isomerase (PDI)	TKR	7318	1 mg	285,000원

- **형상** 동결건조품 [50 mM sodium phosphate buffer (pH7.5) 용액 200 µl 동결건조]
- **순도** SDS polyacrylamide gel 전기영동으로 single band
- **보존** -20℃
- **효소번호**  
5.3.4.1
- **유래**  
Bovine Liver

- **반응**  
적절한 산화환원제 존재하에서 disulfide 결합의 변환을 촉진한다.
- **활성의 정의**  
pH7.5, 25℃에서 15 분간에 1 RNaseA U\*을 회복시키는 효소활성을 1 U로 한다.  
\*cytidine 2': 3'-cyclic monophosphate를 기질로 하여, pH7.5, 25℃에서 1 분간에 284 nm의 흡광도를 0.001 증가시키는 효소활성을 1 RNase A U로 한다.
- **활성비**  
300 U/mg protein 이상

## Calpastatin

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Calpastatin	TKR	7316	3 mg	285,000원

- **보존** -20℃
- **제품설명**

Calpastatin은 calpain (calcium dependent cysteine protease)에 특이적으로 작용하는 내재성 protease inhibitor로 120~140 아미노산 잔기들로 이루어진 반복서열과 N-말단과 상동성이 없는 서열로 이루어져 있고, 고등 동물의 각종 세포에 널리 분포되어 있다. 본 제품은 human calpastatin의 domain I을 유전자 재조합 기술로 생산하여 고도로 정제된 것으로 분자량은 약 14,000이며, 135개의 아미노산 잔기로 구성된다.

- **형상**  
동결건조품 (백색 무정형 분말)
- **순도**  
SDS-PAGE에서 single band

L-b

단백질 Refolding

# 단백질 추출 · 정제

## 친화성크로마토그래피 담체

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
IDA Excellose Purification of polyhistidine tagged protein	BPG	BPA001	10 ml	85,000원
IDA Excellose Purification of polyhistidine tagged protein	BPG	BPA002	50 ml	275,000원
IDA Excellose Purification of polyhistidine tagged protein	BPG	BPA003	100 ml	465,000원
Glutathione Excellose Purification of GST fusion protein	BPG	BPA004	10 ml	185,000원
Glutathione Excellose Purification of GST fusion protein	BPG	BPA005	50 ml	662,000원
Glutathione Excellose Purification of GST fusion protein	BPG	BPA006	100ml	1,125,000원
MBP Excellose Purification of MBP fusion protein	BPG	BPA007	10 ml	85,000원
MBP Excellose Purification of MBP fusion protein	BPG	BPA008	50 ml	275,000원
MBP Excellose Purification of MBP fusion protein	BPG	BPA009	100 ml	467,000원
Protein A Excellose Antibody purification	BPG	BPA010	1 ml	91,000원
Protein A Excellose Antibody purification	BPG	BPA011	5 ml	310,000원
Protein G Excellose Antibody purification	BPG	BPA012	1 ml	91,000원
Protein G Excellose Antibody purification	BPG	BPA013	5 ml	340,000원

### ■ 보관 2~8℃

### ■ 제품설명

친화성크로마토그래피는 분리하고자 하는 단백질과 특이적 상호작용을 가지는 리간드 (ligands: chemicals, amine, amino acids, peptides, proteins)를 담체에 고정화시킴으로써 단백질과 리간드간의 친화성을 이용하는 단백질 분리방법이다. 생물시스템 내의 다양한 단백질로부터 목적 단백질의 특이성을 이용한 선택적 분리방법으로 용합단백질 및 항체의 분리정제에 널리 이용되고 있다. 당사에서는 Excellose에 다양한 리간드를 도입한 친화성크로마토그래피 담체와 고객이 원하는 리간드를 도입할 수 있는 다양한 종류의 activated excellose를 보유하고 있어 단백질 분리정제용 담체로서 폭넓게 응용될 수 있다.

### ■ 관련제품

Chelating Excellose Spin Kit  
 IDA MiniExcellose  
 Glutathione Excellose Spin Kit  
 Glutathione MiniExcellose  
 MBP Excellose Spin Kit  
 MBP MiniExcellose

### ■ 특징

구분	IDA Excellose	Glutathione Excellose	MBP Excellose
Binding capacity (mg protein/ml gel)	0.8 at 25 kDa	8 ~ 10	15 ~ 18
Ligand	Iminodiacetic acid	Glutathione	Maltose
Bead form	Spherical	Spherical	Spherical
Particle range (μm)	75 ~ 200	75 ~ 200	75 ~ 200
Space arm (atoms)	5	12 (10 carbons)	5
Functional group	Epoxy, Metal ion (Ni <sup>2+</sup> )*	Epoxy	Epoxy
Storage	20% Ethanol	20% Ethanol	20% Ethanol

\* 기본적으로 Ni<sup>2+</sup>이 charge되어 있으며 요청 시 Ni<sup>2+</sup>이 charge 되어 있지 않은 제품을 제공해 드립니다.

상기의 용량을 가진 resin을 이용하여 만든 Spin kit와 Mini-column은 사용 용량만 다를 뿐 ml 당 동일한 binding capacity를 가집니다.

L-c

단백질 추출 · 정제

## 단백질 정제 kit 류

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
Chelating Excellose Spin Kit His-tagged Protein Purification	BPG	BPS001	20 columns	146,000원
Chelating Excellose Spin Kit His-tagged Protein Purification	BPG	BPS002	50+2 columns	327,000원
Glutathione Excellose Spin Kit GST Fusion Protein Purification	BPG	BPS003	20 columns	218,000원
Glutathione Excellose Spin Kit GST Fusion Protein Purification	BPG	BPS004	50+2 columns	460,000원
MBP Excellose Spin Kit MBP Fusion Protein Purification	BPG	BPS005	20 columns	146,000원
MBP Excellose Spin Kit MBP Fusion Protein Purification	BPG	BPS006	50+2 columns	327,000원

### ■ 내용

#### Chelating Excellose Spin Kit

IDA Excellose

Spin column/collection tube

5 × Equilibration buffer

5 × Washing buffer

1 × Elution buffer

#### Glutathione Excellose Spin Kit

Glutathione Excellose

Spin column/collection tube

10 × Washing buffer

1 × Elution buffer

#### MBP Excellose Spin Kit

MBP Excellose

Spin column/collection tube

10 × Washing buffer

1 × Elution buffer

### ■ 보관 2 ~ 8℃

### ■ 제품설명

높은 순도의 단백질을 얻고자 한다면 한 가지 또는 일률적인 방법으로는 불가능하며 대부분의 경우, 최적의 정제법을 확립하기 위해서는 다수의 시행착오를 염두에 두고 행해져야 한다. Spin Kit는 별도의 크로마토그래피 시스템을 갖추고 있지 않아도 소형 원심분리기만으로 손쉽게 정제된 단백질을 얻을 수 있다.

이러한 간단한 조작으로 한번에 많은 수의 실험이 가능하기 때문에 정제에 필수적인 정제조건 최적화 실험 또는 다양한 단백질의 정제에 손쉽게 이용할 수 있다.

- Chelating Excellose Spin Kit : chelating 담체에 Ni-이온을 고정화시켜 6 × Histidine tag를 가진 용합 단백질을 정제하기 위하여 개발된 제품이다.
- Glutathione Excellose Spin Kit : 소형 원심분리기를 이용하여 GST (glutathione S-transferase) 용합단백질을 짧은 시간 안에 정제할 수 있도록 개발된 제품이다.
- MBP Excellose Spin Kit : Cellulose 담체에 MBP (maltose binding protein)와 affinity를 갖는 리간드를 도입하여 간단한 조작으로 MBP 용합단백질을 짧은 시간 안에 정제할 수 있도록 개발된 제품이다.

### ■ 사용상의 주의

제품에 첨가되어 있는 buffer 중 5 × 나 10 ×로 농축된 buffer는 1 ×로 희석해서 사용하는 것이 바람직하다. 본 kit에서 제공되는 메뉴얼은 가장 일반적인 정제조건이다. 따라서 사용자의 단백질 결합 특성에 따라 정제 방법이 달라질 수도 있다.

### ■ 관련제품

IDA Excellose

IDA MiniExcellose

Glutathione Excellose

Glutathione MiniExcellose

MBP Excellose

MBP MiniExcellose

L-C

단백질 추출 · 정제

## 단백질 정제 Column류

제품명	제조사	TaKaRa Code	용량	가격
IDA MiniExcellose	BPG	BPM001	3 ml	50,000원
Glutathione MiniExcellose	BPG	BPM002	3 ml	55,000원
MBP MiniExcellose	BPG	BPM003	3 ml	50,000원

### ■ 보관 2 ~ 8℃

### ■ 제품설명

MiniExcellose 크로마토그래피 시스템을 갖추고 있지 않아도 중력을 이용하여 단백질을 정제할 수 있는 미니 컬럼으로 GST, MBP, Histidine 용합 단백질을 한 시간 안에 mg 이상 정제할 수 있도록 개발된 제품이다.

MiniExcellose 역시 이러한 간단한 조작으로 인하여 한번에 많은 수의 실험이 가능하기 때문에 정제에 필수적인 정제 조건 최적화 실험 및 다양한 단백질의 정제에 손쉽게 이용될 수 있다.

- Chelating MiniExcellose는 chelating 담체에 Ni-이온을 고정화시켜 6 × Histidine tag를 가진 용합 단백질을 정제하기 위하여 개발된 제품이다.
- Glutathione MiniExcellose는 GST (glutathione S-transferase) 용합단백질을 짧은 시간 안에 정제할 수 있도록 개발된 제품이다.
- MBP MiniExcellose는 cellulose 담체에 MBP (maltose binding protein)와 affinity를 갖는 리간드를 도입하여 간단한 조작으로 MBP 용합단백질을 짧은 시간 안에 정제할 수 있도록 개발된 제품이다.

### ■ 주의

본 컬럼에서 제공되는 메뉴얼은 가장 일반적인 정제 조건이다. 따라서 사용자의 단백질 결합 특성에 따라 정제 방법이 달라질 수도 있다. MiniExcellose와 함께 제공되는 test tube에는 압력이 걸리지 않도록 윗부분에 작은 구멍이 뚫어져 있으므로 단백질 용액의 보관시에는 다른 tube나 bottle로 옮겨서 보관하여야 한다.

### ■ 관련제품

IDA Excellose

Chelating Excellose Spin Kit

Glutathione Excellose

Glutathione Excellose Spin Kit

MBP Excellose

MBP Excellose Spin Kit