タンパク質発現カタログ

コスモ・バイオ株式会社
COSMO BIO CO., LTD.

タンパク質発現カタログ　目次

鶏卵バイオリアクターを用いたタンパク質大量生産受託サービス　TMG社　2

無細胞発現（*In vitro* 転写／翻訳システム）

- PURE*frex*® 酵素的 無細胞タンパク質合成キット　GFK社　3
- RYTS Kit（大腸菌無細胞タンパク質合成キット）　PRX社　7
- ALiCE® 植物細胞ベースの無細胞タンパク質発現キット　LNO社　8

大腸菌によるタンパク質発現

- ClearColi® BL21（DE3）エレクトロコンピテントセル　LUC社　10
- OverExpress™ Competent Cell　LUC社　13
  - *Application Note*　植物 P450 を発現させた OverExpress™ C41（DE3）による微生物変換　LUC社　16
- SoluBL21™ *E.coli* コンピテントセル　GEN社　18
- BL21（DE3）コンピテントセル、Champion™ 21　SMO社　19
- HI-Control™ BL21 (DE3) ／ HI-Control™ 10G コンピテントセル　LUC社　20
- BL21（DE3）コンピテントセル　GMB社　20
- *E. cloni*® EXPRESS BL21（DE3）コンピテントセル　LUC社　21
- Expresso® T7 クローニング & 発現システム　LUC社　22
- Expresso® T7 SUMO クローニング & 発現システム　LUC社　24
- Expresso® Rhamnose クローニング & 発現システム　LUC社　26
- ファージディスプレイ用 コンピテントセル　LUC社　27
- Topics　バクテリオファージ M13 用ヘルパーファージ Hyperphage M13 K07 ΔpIII　PGN社　28
- Topics　*E. coli* 宿主細胞由来タンパク質（HCP）ELISA キット　ENZ社　29
- Topics　*E. coli* 宿主細胞タンパク質（HCP）抗体、コントロール製品　RKL社　29
- Topics　AviTag™ ビオチンリガーゼ発現システム　AVI社　30

哺乳類細胞によるタンパク質発現

- CHO 細胞株 & 推奨培地　CET社　31
- Topics　CELLiST™ シリーズ　～CHO 細胞向けの基礎培地 & フィード培地～　AJI社　32
- Topics　CHO 細胞抗体　PGI社　33
- Topics　CHO 宿主細胞由来タンパク質（HCP）ELISA キット　ENZ社　33
- HEK293 細胞　CLI社　34
- Topics　HEK293T 宿主細胞由来タンパク質（HCP）ELISA キット　ENZ社　35
- Topics　HEK293 細胞抗体と HEK293T 細胞抗体　PGI社　35
- Topics　TG-Sure Expression（IR/MAR）タンパク質高発現試薬　KAL社　36

昆虫細胞によるタンパク質発現

- バキュロウイルス発現キット *baculo*COMPLETE™　OET社　37
- *super*Sf9 cells® バキュロウイルス発現システム用細胞株　OET社　38

コスモ・バイオでは、取り扱いメーカーを簡単に表すためにメーカー略号を用いています。
正式なメーカー名称は、各商品ページ、もしくは本カタログの最後をご覧ください。

酵母によるタンパク質発現

・ IP フリー *Pichia pastoris* 株　DNA社　39

原生動物によるタンパク質発現

・ リーシュマニア株を用いた発現システム *in Vivo* LEXSY　JNA社　41

その他

・ 遺伝子合成 & 最適化受託サービス　DNA社　45
・ リコンビナントタンパク質発現確認用ポジティブコントロール　RKL社　46
・ Proflo His-tag quick test　PGN社　47
・ タンパク質発現用プラスミド & ウイルスベクターのメーカー紹介　48

記事 ID 検索

詳しい情報はコスモ・バイオ Web サイトへ

コスモ・バイオ Web サイトトップページ「記事 ID 検索」に、記事 ID で示された数字を入力して検索してください。ダイレクトにページへ行くことができます。

その他、複数の方法でご検索いただけます。商品カテゴリを指定しての検索も可能です。

表紙解説　元にした絵は、「鼠の草紙絵巻（ねずみのそうしえまき）」

制作年代 1650～1699 年　江戸時代　スペンサー・コレクション　所蔵・画像提供：ニューヨーク公共図書館

https://digitalcollections.nypl.org/　「Nezumi no soshi emaki」で検索

参考：　かわいい絵巻　上野友愛・岡本麻美 著　株式会社 東京美術
絵が物語る日本　ニューヨーク　スペンサー・コレクションを訪ねて
人間文化研究機構 国文学研究資料館 編　株式会社 三弥井書店

忙しなく厨房で働く人たち・・・良く見ると顔がネズミ？この絵は「鼠の草紙絵巻」の一部で、人との縁を結びたいと願った主人公・鼠の権頭（ごんのかみ）と、人である姫との婚礼、別離、出家を描いた物語。古くは室町時代から、いくつもの版が国内外に残っています。

参考にしたこの元絵は、スペンサー・コレクション版です。研究論文集「絵が物語る日本」によると、このコレクションは日本の絵巻を含む世界中の美しい装丁本を数多く収蔵しており、発端となったフランスの絵入り本収集家のスペンサー氏がタイタニック号の遭難でお亡くなりになり、そのコレクションを夫人が寄贈したのが発端とのこと。あの船と日本が結びつくとは数奇な縁です。

コスモ・バイオのタンパク質発現カタログの表紙では、実験室を厨房に見立て、タンパク質を「調理」させてみました。このねずみたちのかわいらしさに敵わないので、ネズミ化はできませんでしたが。

今も昔も、創造することが楽しいことは変わらないようです。心躍る研究の一助に、本書をお役立ていただけましたら幸いです。

タンパク質大量生産受託
無細胞発現
大腸菌による発現
哺乳類細胞による発現
昆虫細胞による発現
酵母による発現
原生動物による発現
その他

▶▶▶ タンパク質大量生産受託

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 35906

鶏卵バイオリアクターを用いた タンパク質大量生産受託サービス

コスモ・バイオ株式会社

［コスモ・バイオ株式会社　メーカー略号：TMG］

組換えタンパク質の大量生産受託サービス

オールジャパン体制での新たな「ものづくり」。遺伝子改変ニワトリを用いた組換えタンパク質の大量生産受託サービス

鶏卵の卵白中に、目的とする有用なタンパク質を大量に生産させる技術（鶏卵バイオリアクターを用いたタンパク質製造技術）を用いた、リコンビナントタンパク質の受託製造サービスです。

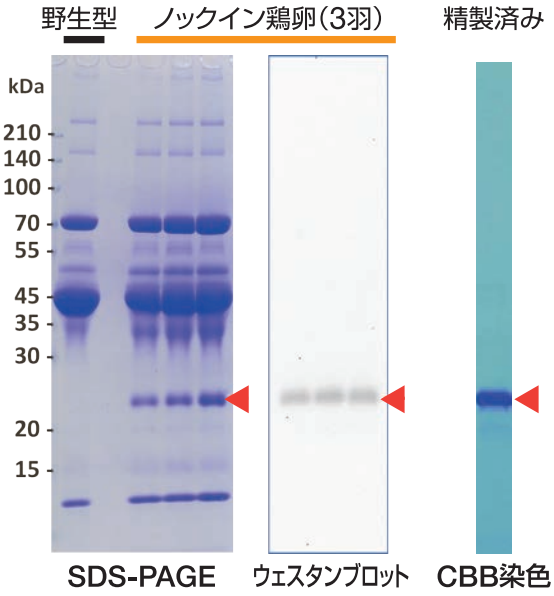
当サービスでは、「鶏卵の卵白中に、目的とする有用なタンパク質を大量に生産させるように『ゲノム編集』した遺伝子ノックインニワトリ」を用いて、目的タンパク質を大量製造・精製して納品いたします。

従来のタンパク質製造技術と比べ、大量かつ安定してタンパク質を製造することができ、さらに低コストで製造が可能です。

本事業は、国立研究開発法人 産業技術総合研究所、C4U 株式会社からライセンスを受けて実施しております。

実施例

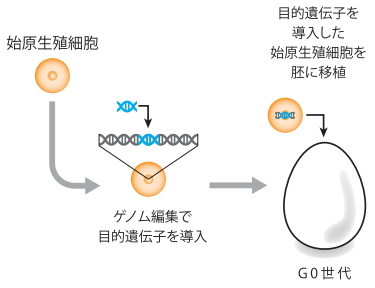
- ●ヒトサイトカイン
- ●ヒト化抗体　など



◀：ヒトサイトカインX　100 mg/卵

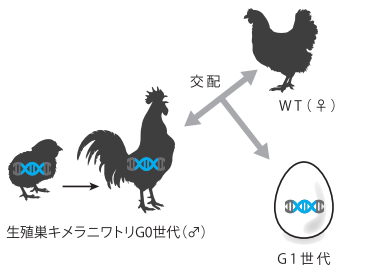
ノックインニワトリの作製方法

1 始原生殖細胞へゲノム編集技術を用いて、目的遺伝子を導入し、鶏卵内に移植



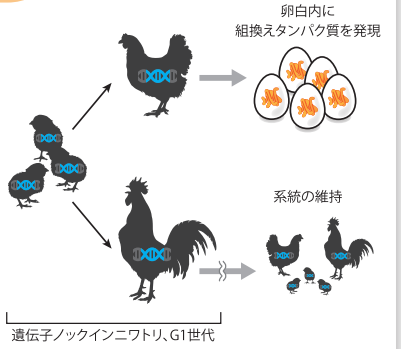
3〜4ヶ月

2 組換え雄鶏（G0世代）を用いて、交配



8〜9ヶ月

3 遺伝子ノックインニワトリ（G1世代）→ 卵白内に組換えタンパク質を発現



5〜6ヶ月

お見積もり・お問い合わせ先

コスモ・バイオの Web より、本サービスのお見積もり・お問い合わせのご依頼を受け付けています。
また、コスモ・バイオでは鶏卵バイオリアクター技術を用いた共同研究をおこなっています。こちらに関しても、お問い合わせを受け付けています。
メールによるお問い合わせをご希望の方は、下記までお願いします。秘密保持契約などにつきましても、対応可能です。

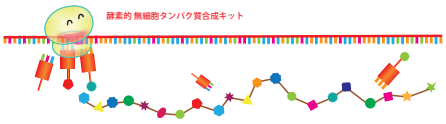
E-mail : tamago@cosmobio.co.jp

PURE*frex*® 酵素的 無細胞タンパク質合成キット

GeneFrontier

タンパク質調製に細胞は必要ありません

細胞の中で行われているタンパク質合成反応をチューブ内に再現



FAQあります

本商品は、大腸菌からタンパク質合成に必要な成分（転写・翻訳・エネルギー再生に必要なタンパク質、リボソーム）を単離精製し、アミノ酸や NTP 等と混合して再びタンパク質合成できる形に再構成する PURE システム※1 を用いた無細胞タンパク質発現キットです。キットに含まれる大腸菌由来のリボ多糖が低減されていますので、合成したタンパク質を精製せずに、細胞を用いた実験やアッセイに直接用いることができます。

反応液に、目的のタンパク質をコードする DNA もしくは mRNA を添加して反応することにより、タンパク質を合成します。精製した因子を混合した反応液を使用するため、組成を自由に調節できる、翻訳などに無関係なタンパク質をほとんど含まないなどの特長があります。さらに、PURE*frex*® に含まれる翻訳因子などのすべてのタンパク質には、精製、検出用のタグ配列が付加されていません。そのため、あらゆるタグ配列を付加したタンパク質を合成し、タグにより精製・検出を行うことが可能です。

※1　東京大学大学院 新領域創成科学研究科 教授 上田 卓也 先生らが開発。

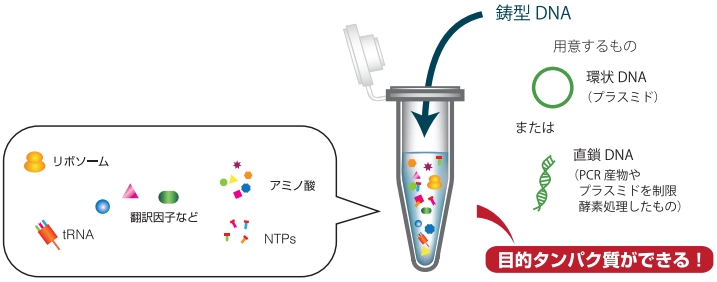


図 1　システムの概要
本キットは、精製した因子を再構成した反応液のセットです。鋳型 DNA は、PCR 反応液を直接添加して使えます。目的のタンパク質は、ワンチューブで、37℃、数時間で合成可能です。

特長

- ●PURE*frex*® は、どんな生物由来のタンパク質でも鋳型の構成は同じなので、宿主やベクターの検討も不要
- ●複数鋳型を混在して反応させ、Fab 等、多量体の合成も可能※2
- ●生細胞では難しい、毒性の強いタンパク質も合成できる※2
- ●反応液量あたりの合成量はほとんど変わらない（数 μL ～ 数 10 mL）
- ●操作は簡単。ワンチューブで、37℃、数時間で合成
- ●タグによる合成タンパク質の精製・検出が可能

※2　複数鋳型混在下における Fab の合成例、およびタンパク質毒素の合成例をコスモ・バイオの Web からご覧になれます。
記事 ID　16268　検索

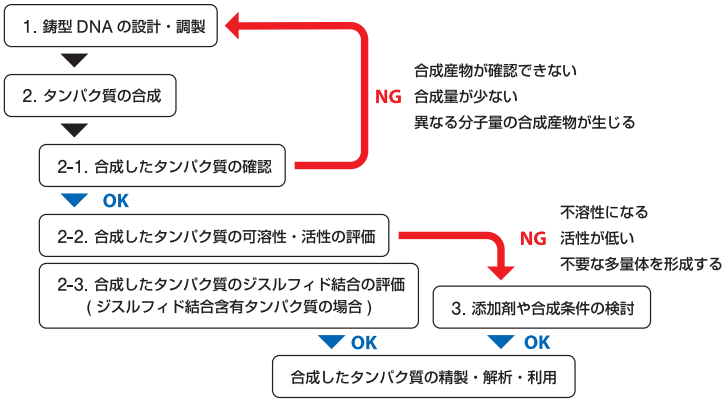


図 2　PURE*frex*® を用いたタンパク質合成実験のワークフロー

PURE*frex*® を用いたタンパク質合成に適した鋳型 DNA の設計する際のポイント

- **●ORF 全体：**
  大腸菌のコドン使用頻度に基づいたコドンを使用する
  フレームシフトを生じる配列（X/XXY/YYZ など）は除く
- **●N 末端：**
  AT リッチコドンを使用する
  開始メチオニン直後のプロリンやグリシンはできるだけ避ける
- **●5'UTR：**
  SD 配列（リボソーム結合配列）を含む
  SD 配列上流の AT リッチ配列を 15 塩基以上含む
  （全て図 3 参照）

タンパク質合成は、本キットの Solution Ⅰ、Ⅱ、Ⅲを混合した反応液に、鋳型 DNA を添加し、転写・翻訳反応を同時に行います。そのため、PURE*frex*® での合成に適した鋳型 DNA の作製がタンパク質合成に重要なカギの一つになります。より詳しい調製方法に関しましては、鋳型 DNA のサイト（https://www.genefrontier.com/faq/purefrex-template-dna/）をご覧ください。

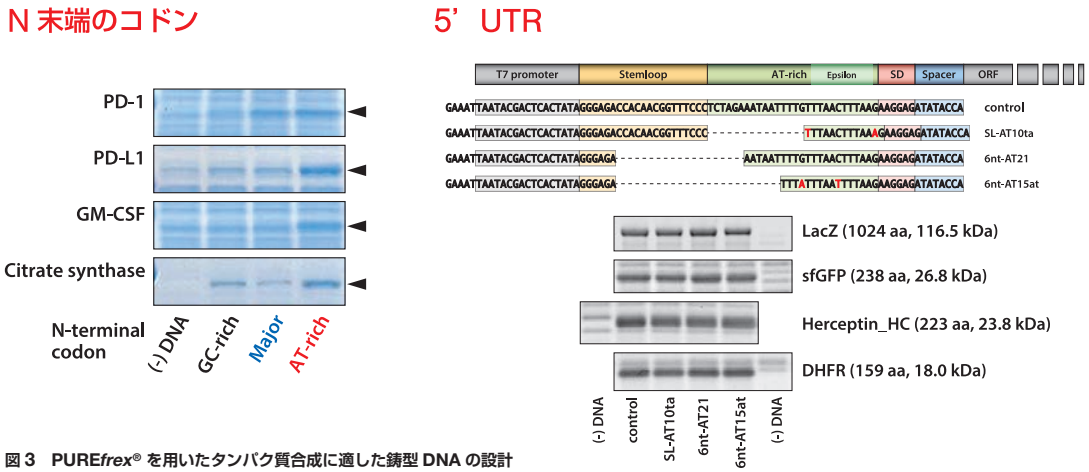


図 3　PURE*frex*® を用いたタンパク質合成に適した鋳型 DNA の設計

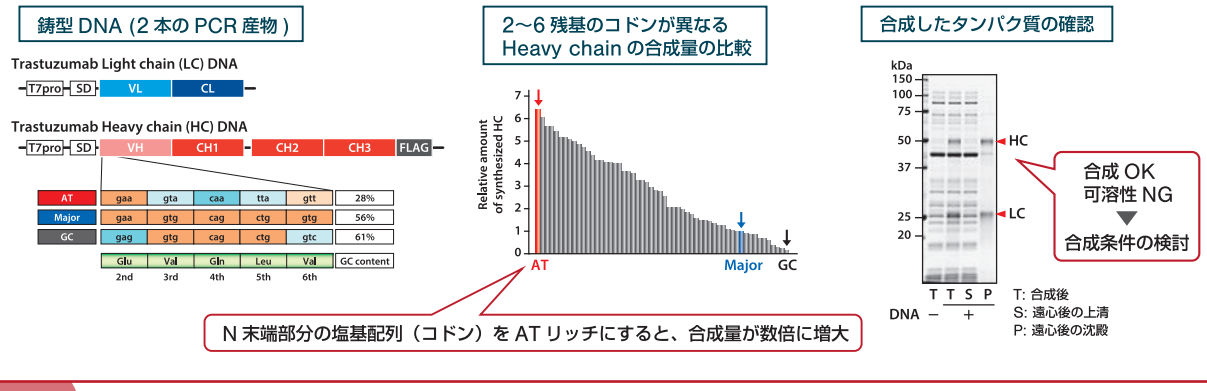
実験例

実験例　抗原結合活性を有する IgG の合成

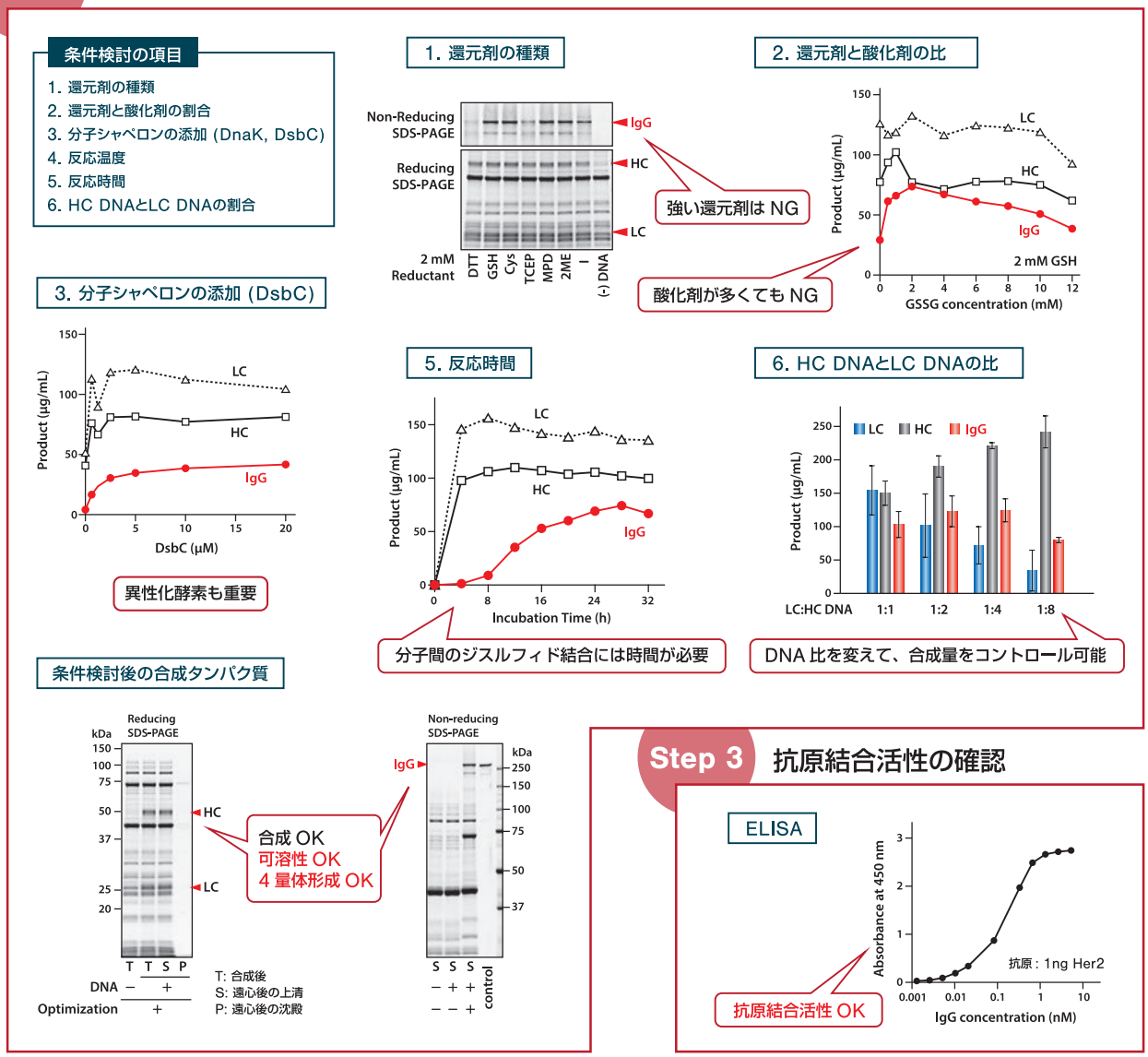
(Murakami S. *et al.* (2019) *Sci. Rep.*, vol. 9, p. 671.)

LC、HC の2本の鋳型 DNA から IgG を合成。抗原結合活性には、正しい高次構造形成が必要。

Step 1　鋳型 DNA 配列の最適化と合成したタンパク質の確認



Step 2　可溶性の 4 量体として合成する条件の検討



Step 3　抗原結合活性の確認

FAQ

ジーンフロンティア株式会社
メーカー略号：GFK

GeneFrontier

【01】ヒト由来のタンパク質など大腸菌以外のタンパク質も合成できますか？

PURE*frex*® は、大腸菌由来の翻訳系を再構成したタンパク質合成系ですが、哺乳類、植物などの高等真核生物由来のタンパク質も合成できます。ただし、GC 含量、マイナーコドンの出現頻度などの核酸の配列により、タンパク質合成効率が低くなる傾向があります。様々なタンパク質を合成した例もございます。詳細はコスモ・バイオの Web をご覧ください。

【02】PURE*frex*® ではどのくらいタンパク質を合成できますか？

合成するタンパク質に依存しますが、例えば、キットに付属のコントロール鋳型 DNA であるジヒドロ葉酸還元酵素（DHFR）は、PURE*frex*® 1.0 の場合、反応液 1 mL あたり約 150 μg、PURE*frex*® 2.0 の場合、反応液 1 mL あたり約 600 μg を合成できます。

【03】PURE*frex*® ではどのくらいの分子量のタンパク質が合成可能ですか？

数残基のペプチドから、約 100 kDa の分子量のタンパク質も合成できます。β-Galactosidase を合成した例もございます。

【04】推奨反応温度と反応時間を教えてください。

37℃で 2 ～ 4 時間の反応を推奨しています。

【05】タグを付加させたタンパク質は合成・精製可能ですか？

PURE*frex*® に含まれる全てのタンパク質には、精製・検出用のタグは付加されていません。そのため、ヒスチジンタグ（Histag）を含む全てのタグ配列を使用可能です。例えば、Histag を付加した GFP を PURE*frex*® で合成後、金属アフィニティ樹脂で精製した例もございます。

【06】合成されたタンパク質は、糖鎖修飾やリン酸化などの翻訳後修飾はされますか？

PURE*frex*® は翻訳に必要な因子のみを再構成したタンパク質合成系のため、リン酸化などの翻訳後修飾はされません。

【07】分子シャペロンは含んでいますか？

PURE*frex*® は翻訳に必要な因子のみを再構成したタンパク質合成系のため、Hsp70 や Hsp60 などの分子シャペロンは含みません。ジーンフロンティアでは、PURE*frex*® でのタンパク質合成時に添加してお使いいただける、分子シャペロンも発売しております。

【08】ジスルフィド結合を有するタンパク質を合成できますか？

タンパク質の活性にジスルフィド結合が必要な場合には、PURE*frex*® 1.0 あるいは PURE*frex*® 2.0 に添加剤の DS supplement（製品番号：PF005-0.5）を添加してお使いください。SS 結合が複数個所存在するタンパク質の合成例に関しては、コスモ･バイオの Web をご覧ください。

【09】膜タンパク質は合成できますか？

膜タンパク質も合成はできますが、ほとんどの場合、合成された膜タンパク質は凝集します。PURE*frex*® 反応液に、リポソームなどの脂質成分を添加して膜タンパク質を合成することにより、脂質成分に組み込まれた膜タンパク質を合成できる場合があります。

【10】[35S] メチオニンや [3H] ロイシンなど放射性同位体で標識されたタンパク質を合成できますか。

[35S] メチオニンや [3H] ロイシンなどの放射性同位体を含むアミノ酸を合成反応液に添加して合成することにより、放射性同位体で標識されたタンパク質を合成できます。なお、PURE*frex*® 1.0 には、20 種類の天然アミノ酸が、それぞれ終濃度で 0.5 mM となるように含まれています。

【11】T7 プロモーター以外のプロモーターは使用できますか？

PURE*frex*® の反応液には、転写酵素として T7 RNA ポリメラーゼが含まれていますので、T7 プロモーターを付加した鋳型 DNA の使用を推奨しています。他のプロモーターを使用する場合は、そのプロモーターに対応した RNA ポリメラーゼを添加して反応させてください。

【12】ポジティブコントロールの DHFR が合成されない場合の原因は？

PURE*frex*® の反応液は、反応チューブを直接加温するヒートブロックまたはウォーターバスで反応させてください。気相の恒温槽（培養用恒温器など）で反応すると、反応液の温度の上昇に時間がかかり、合成量が低くなります。

キットの構成成分が失活している可能性があります。失活を防ぐために、キットは適切な温度で保存してください。また、溶液を分注することにより、凍結融解の繰り返しはできるだけ避けてください。

ヌクレアーゼが混入している可能性があります。ヌクレアーゼの混入を防ぐためには、ヌクレアーゼフリーのチューブ、チップ、試薬を用い、手袋やマスクを着用して実験を行ってください。

【13】DHFR は合成されるが、目的のタンパク質が合成されない、または合成量が低い場合、どのような原因が考えられますか？

キットの構成成分が失活している可能性があります。失活を防ぐために、キットは適切な温度で保存してください。また、溶液を分注することにより、凍結融解の繰り返しはできるだけ避けてください。

ヌクレアーゼが混入している可能性があります。ヌクレアーゼの混入を防ぐためには、ヌクレアーゼフリーのチューブ、チップ、試薬を用い、手袋やマスクを着用して実験を行ってください。プラスミド DNA 精製キットを用いたプラスミド DNA の精製では、精製 DNA に、添加した RNase が混入してくる場合がありますので、ご注意ください。

鋳型 DNA の配列が適切ではない可能性があります。PURE*frex*® で使用する鋳型 DNA には、T7 プロモーター、リボソーム結合部位（SD 配列）、開始コドン、終止コドンが必要です。鋳型 DNA の設計に関しては、Web（https://www.genefrontier.com/faq/purefrex-template-dna/）もご覧ください。

転写産物が二次構造を形成して翻訳反応を阻害する場合があります。その場合は、核酸配列の最適化を行ってください。

【14】タンパク質合成に影響を及ぼすファクターはありますか？

＜pH の影響について＞
PURE*frex*® 1.0 の反応液は、pH が 7.5 付近になるようにバッファーが添加されています。そのため、酸やアルカリを添加される場合には、反応液の pH が中性付近になるように調整してください。

＜カリウムイオンの影響について＞
PURE*frex*® 1.0 の反応液中の終濃度が 10 ～ 20 mM の範囲でしたら、タンパク質の合成量に影響はありません。

＜マグネシウムイオンの影響について＞
PURE*frex*® 1.0 反応液中の終濃度が数 mM 程度でしたら、タンパク質の合成量にあまり影響はありません。

＜EDTA などのキレート剤の影響について＞
PURE*frex*® 1.0 反応液へのキレート剤の添加によるマグネシウムイオンの減少は、タンパク質の合成量に非常に影響を与えてしまうため、できるだけご使用を避けてください。

＜その他の 2 価カチオンの影響について＞
PURE*frex*® 1.0 反応液中の終濃度が 10 mM 以上になると、タンパク質の合成量が減少する場合が多いため、できるだけご使用を避けてください。

＜DMSO の影響について＞
PURE*frex*® 1.0 反応液中の終濃度が数 % 程度でしたら、タンパク質の合成量に影響はありません。

＜グリセロールの影響について＞
PURE*frex*® 1.0 は、終濃度 1.5% のグリセロール存在下でタンパク質の合成が行われています。グリセロールを添加される場合、反応液中の終濃度が 5% 以下であればタンパク質の合成量にほとんど影響はありませんが、高濃度のグリセロールはタンパク質の合成を阻害します。

はじめて PURE*frex*® を使う方、はじめて無細胞系をお試しになる方におすすめ

タンパク質発現を行うとき、宿主、発現ベクター、誘導、不溶化など、検討することは意外と多くあります。はじめて PURE*frex*® を使う方、はじめて無細胞系をお試しになる方は、本当に合成できるのか、合成できたとしても合成量が少ないのではないかなどの不安を抱えている方もいらっしゃると思います。

PURE*frex*® は、どんな生物由来のタンパク質でも鋳型の構成は同じなので、宿主やベクターの検討も不要です。全タンパク質共通のプライマーや詳細な解説が付いた、PURE*frex*® 2.0 mini で、まずは、お客様のタンパク質が合成できるかどうかお試しください。合成ができなかった場合も、コスモ・バイオにてサポートいたします。

PURE*frex*® 2.0 mini 構成内容

構成内容	お客様にご用意いただくもの
PURE*frex*® 2.0（タンパク質合成試薬）	目的タンパク質の遺伝子
T7PRO-SD primer（5'UTR 配列を含むプライマー）	Fw と Rev のプライマー（PCR 産物を鋳型 DNA としてご利用の場合）
DHRF DNA（ポジティブコントロール用の鋳型 DNA）	

[ジーンフロンティア株式会社　メーカー略号：GFK]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
PURE*frex*® 2.0 mini	PF201-0.1	1 kit（100 μL 反応用）	¥9,800	凍

タンパク質合成反応液：タンパク質の使用用途に合わせてお選びください

■ PURE*frex*® 1.0

PURE*frex*® 1.0 は、反応液の組成が公開されているため、カスタム品をお考えなど、構成内容の情報が必要な場合におすすめします。また、PURE*frex*® 2.0 でタンパク質を合成した際合成速度が速くて、ジスルフィド結合形成やフォールディングなどが間に合わずに不溶化してしまう場合には、合成速度が遅い PURE*frex*® 1.0 での合成が有効な場合があります。

■ PURE*frex*® 2.0

PURE*frex*® 2.0 は、PURE*frex*® 1.0 の反応液組成を見直し、タンパク質の合成効率を増大させるよう改良した結果、反応液あたりのタンパク質合成量が高くなっています。より多くのタンパク質を必要とする場合や多品種のタンパク質解析を必要とする研究におすすめします。反応液組成は非公開となっています。

■ PURE*frex*® 2.1

PURE*frex*® 2.1 は、酸化還元状態のコントロールが重要となる、ジスルフィド結合を含むタンパク質の合成におすすめします。PURE*frex*® 2.0 の反応液組成をそのままに、還元剤を別添したことにより、添加する還元剤（および酸化剤）の種類や量により、合成時の酸化還元状態を調整できます。これにより、例えば、細胞での発現では難しいジスルフィド結合を含むタンパク質合成に最適な条件も検討できます。また、添加剤である、DsbC Set（旧：DS supplement）や DnaK Mix も反応液に添加して使用できます。

[ジーンフロンティア株式会社　メーカー略号：GFK]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
合成量控え目で OK、基礎研究用				
PURE*frex*® 1.0	PF001-0.25	1 kit（250 μL 反応用）	¥15,000	凍
	PF001-0.25-5	1 kit（5 × 250 μL 反応用）	¥67,500	凍
	PF001-10	1 kit（5 × 2 mL 反応用）	¥440,000	凍
合成量重視				
PURE*frex*® 2.0	PF201-0.25	1 kit（250 μL 反応用）	¥24,000	凍
	PF201-0.25-5	1 kit（5 × 250 μL 反応用）	¥108,000	凍
	PF201-10	1 kit（5 × 2 mL 反応用）	¥700,000	凍
合成量重視しつつ、ジスルフィド結合が大事				
PURE*frex*® 2.1	PF213-0.25	1 kit（250 μL 反応用）	¥24,000	凍
	PF213-0.25-5	1 kit（5 × 250 μL 反応用）	¥108,000	凍
	PF213-10	1 kit（5 × 2 mL 反応用）	¥700,000	凍

添加剤：合成確認後、つぎのステップに合わせてお選びください

■ DsbC Set（旧：DS supplement）

DsbC Set は、PURE*frex*® 反応液に添加することで、ジスルフィド結合形成に最適な環境を作り出します。DsbC Set は、酸化的な環境にするための酸化剤として、酸化型グルタチオン（GSSG）、ジスルフィド結合イソメラーゼとして大腸菌の DsbC が含まれています。タンパク質の活性にジスルフィド結合が必要な場合にお使いください。

■ DnaK Mix

DnaK Mix は、高度に精製した大腸菌由来の DnaK、DnaJ、GrpE を適切な濃度比であらかじめ混合した溶液です。PURE*frex*® 反応液、または DsbC Set を用いたタンパク質合成時に添加することにより、単独では高次構造を形成しにくいタンパク質を、活性を有した状態で合成しやすくします。

■ GroE Mix

GroE Mix は、高度に精製した大腸菌由来の GroEL、GroES を適切な濃度比であらかじめ混合した溶液です。PURE*frex*® 反応液を用いたタンパク質合成時に添加することにより、単独で高次構造を形成しにくいタンパク質を、活性を有した状態で合成しやすくします。

■ PDI Set

PDI Set は、ジスルフィド結合形成が可能な環境にするための酸化剤として酸化型グルタチオン（GSSG）、ヒト由来のジスルフィド結合イソメラーゼ（PDI）、および PDI の酸化酵素である Ero1α が含まれています。PURE*frex*® 反応液を用いたタンパク質合成時に添加することで、正しいジスルフィド結合を形成して活性を有したタンパク質を合成しやすくします。

■ EF-P

EF-P は、34 位リジンに翻訳後修飾を受けた大腸菌由来の組換えタンパク質を含む、タンパク質合成用添加剤です。連続したプロリン残基（Pro-Pro-Pro や Pro-Pro-Gly など）を含むタンパク質は、大腸菌の転写・翻訳反応に関与する因子で構成されている PURE*frex*® での合成が難しいことや、合成量が低い場合がありますが、EF-P を添加することで合成量を改善することができます。

[ジーンフロンティア株式会社　メーカー略号：GFK]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
高次構造形成、可溶性向上				
DnaK Mix	PF003-0.5 PF003-10	1 kit（500 μL 反応用） 1 kit（5 × 2 mL 反応用）	¥18,000 ¥290,000	凍 凍
GroE Mix	PF004-0.5 PF004-10	1 kit（500 μL 反応用） 1 kit（5 × 2 mL 反応用）	¥18,000 ¥290,000	凍 凍
ジスルフィド結合形成を促進				
DsbC Set (Former: DS supplement)	PF005-0.5 PF005-10	1 kit（500 μL 反応用） 1 kit（5 × 2 mL 反応用）	¥10,000 ¥160,000	凍 凍
PDI Set	PF006-0.5 PF006-10	1 kit（500 μL 反応用） 1 kit（5 × 2 mL 反応用）	¥10,000 ¥160,000	凍 凍
プロリンの多いタンパク質合成に				
EF-P	PFS052-0.5 PFS052-10	1 kit（500 μL 反応用） 1 kit（5 × 2 mL 反応用）	¥5,000 ¥80,000	凍 凍

カスタムキット

カタログにないキットも、ご要望に応じて、0.5 mL 反応分から作製します。Solution から特定の因子を除くなどの対応が可能です。コスモ・バイオまでお問い合わせください。

▶▶▶ 無細胞発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 6443

RYTS Kit（大腸菌無細胞タンパク質合成キット）

ProteinExpress

迅速！簡単！ワンステップ！

RYTS Kit は、大腸菌無細胞タンパク質合成に必要な全ての試薬を含むキットです。転写・翻訳反応に必要な成分を全て含んでいますので、発現テンプレートを反応液に加えるだけで、迅速・簡便にタンパク質合成を行うことができます。

このキットに含まれる大腸菌抽出液は、広範囲な種類のタンパク質を効率よく合成することを目的として、独立行政法人理化学研究所にて開発されました[1～4]。大腸菌抽出液内の核酸分解酵素の存在量を大幅に抑えているため、環状 DNA 以外にも直鎖 DNA や mRNA を鋳型として翻訳反応を行うことができます。また、従来では合成が困難であった比較的大きなタンパク質の合成にも適しています。合成したタンパク質は、X 線構造解析や NMR 構造解析として利用できます。

特長

- ●高分子量タンパク質の合成
- ●300 μL あたり、最大 150 μg のタンパク質が合成可能
- ●透析膜を利用することで、長時間の合成反応が可能
- ●バルクでの供給も可能

構成内容

- ●*E.coli* ライセート
- ●2 ×反応液
- ●Methionine
- ●酵素液
- ●CAT コントロールベクター
- ●Nuclease Free Water

参考文献

1. Eiko Seki, *et al.*, *Analytical Biochemistry*, 377, 156-161 (2008).
2. Dong-Myung Kim, *et al.*, *Eur. J. Biochem.*, 239, 881-886 (1996).
3. Takanori Kigawa, *et al.*, *Journal of Structural and Functional Genomics*, 5, 63-68 (2004).
4. Masaaki Aoki, *et al.*, *Protein Expression and Purification*, 68, 128-136 (2009).

[株式会社プロテイン・エクスプレス　メーカー略号：PRX]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
RYTS Trial Kit	CF001	0.3 mL	¥24,000	凍
RYTS Kit	CF002	5 × 0.3 mL	¥42,000	凍

タンパク質大量生産受託
無細胞発現
大腸菌による発現
哺乳類細胞による発現
昆虫細胞による発現
酵母による発現
原生動物による発現
その他

▶▶▶ 無細胞発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 42785

ALiCE® 植物細胞ベースの無細胞タンパク質発現キット

収量最大 3 mg/mL！　工業用スケールまで対応可能！

ALiCE® は、真核生物系無細胞タンパク質発現キットです。ALiCE® は Fraunhofer 社および Dow AgroSciences 社にて活用されていた特許技術を組み合わせたものであり、小麦胚芽、CHO 細胞、HeLa 細胞、大腸菌等を用いた既存の無細胞タンパク質発現方法よりも高い発現量が得られます。

特長

- ●高収量：最大 3 mg/mL のタンパク質を合成できる
- ●高コストパフォーマンス：同程度の価格で最大 30 倍のタンパク質収量を得られる※
- ●迅速・簡便：48 時間、ワンステップの反応工程で目的のタンパク質の合成が可能
- ●柔軟：細胞毒性タンパク質や構造が複雑な「生産が難しい」タンパク質の発現が可能
- ●アクティブなミトコンドリアによるエネルギー供給
- ●500 種類を超えるタンパク質を発現評価済み

※既存の無細胞タンパク質発現系と比較して

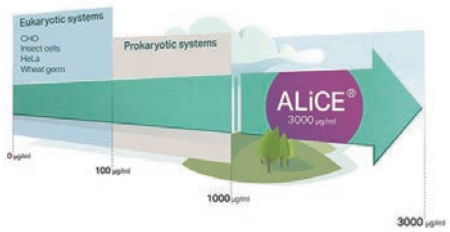


図 1　各無細胞タンパク質発現系での目的タンパク質の収量

使用目的

ALiCE® は、液胞が枯渇したタバコ細胞溶解物を利用した無細胞タンパク質合成キットです。本キットには、*in vitro* での転写に必要な RNA ポリメラーゼ、NTP といったすべての因子および翻訳反応に必要なリボソーム、翻訳開始 / 伸長因子、tRNA などが含まれています。単一のチューブ内でプラスミド DNA を ALiCE® 反応ミックスと混合するだけで RNA 転写と翻訳の両方が行われ、約 48 時間で最大 3 mg/mL の目的タンパク質を回収することが可能です。

本キットには、目的タンパク質に応じて使用できる 2 つの発現ベクター pALiCE01 および pALiCE02 が付属しています。これらは、ALiCE® 発現システムと組み合わせて使用すると、優れたタンパク質収量が得られるように特別に調整されています。

[付属の発現ベクター]
pALiCE01…ALiCE® サイトゾル画分での発現に使用できます。
pALiCE02…シグナルペプチドによりオルガネラ様構造のミクロソームへ移行して、フォールディングや翻訳後修飾されます。

発現タンパク質例

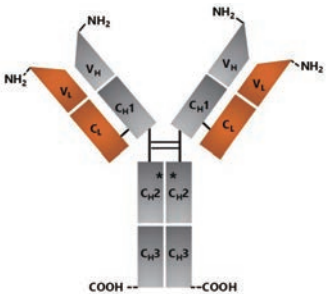


図 2　フルサイズの M12 抗体の発現
・タンパク質発現量：0.14 mg/mL（ALiCE® 旧バージョン使用時、フォールディングのためにミクロソームへ誘導）
・タンパク質の構造：ジスルフィド結合を含むヘテロ四量体
・機能性：ELISA テストで検証済み

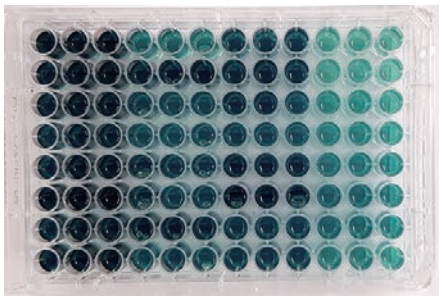


図 3　グルコースオキシダーゼの発現
・タンパク質発現量：1 mg/mL のタンパク質（フォールディングのためにミクロソームへ誘導）
・タンパク質の構造：ジスルフィド結合を含むホモダイマー
・機能性：比色アッセイで活性を確認済み

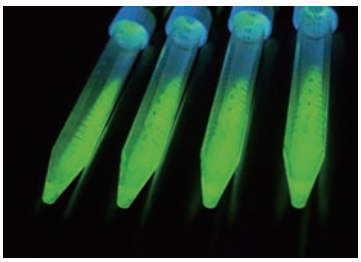


図 4　増強黄色蛍光タンパク質（eYFP）の発現
・タンパク質発現量：3 mg/mL
・タンパク質の構造：ジスルフィド結合を含まないモノマー分子
・機能性：活性を蛍光アッセイで確認済み

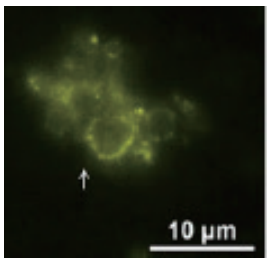


図 5　eYFP タグ付き膜タンパク質 HB-EGF の発現
・タンパク質の特長：ヘパリン結合性上皮成長因子 -eYFP
断片化のわずかな兆候を伴うもののフルサイズのタンパク質を発現
ミクロソーム膜に組み込まれたタンパク質（上図矢印参照）を確認済み

[LenioBio GmbH　メーカー略号：LNO]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
ALiCE® Cell-Free Protein Expression Mini Kit	AL0103050	1 kit（6 × 50 µL）	¥108,000	室 凍
ALiCE® Cell-Free Protein Expression Midi Kit	AL0103200	1 kit（6 × 200 µL）	¥407,000	室 凍
ALiCE® Cell-Free Protein Expression Maxi Kit	AL0103500	1 kit（6 × 500 µL）	ご照会	室 凍

▶▶▶ 大腸菌による発現

コンピテントセル一覧表

本章でご紹介するコンピテントセルをご紹介します。

タンパク質発現用

エンドトキシンフリー　エレクトロ

ClearColi®（LUC 社）　➡ 10 ページ

株	最大形質変換効率
BL21（DE3）	1 × 10^9 cfu/μg

毒性を持つタンパク質発現に　ケミカル　エレクトロ

OverExpress™（LUC 社）　➡ 13 ページ

株	最大形質変換効率
C41（DE3）	ケミカル　：1 × 10^6 cfu/μg エレクトロ：1 × 10^9 cfu/μg
C41（DE3）pLysS	ケミカル　：1 × 10^6 cfu/μg
C43（DE3）	ケミカル　：1 × 10^6 cfu/μg エレクトロ：1 × 10^9 cfu/μg
C43（DE3）pLysS	ケミカル　：1 × 10^6 cfu/μg

Application Note あります！　16 ページへ

不溶性タンパク質発現に　ケミカル　エレクトロ

SoluBL21™（GEN 社）　➡ 18 ページ

株	最大形質変換効率
BL21（DE3）	ケミカル　：1 × 10^6 cfu/μg エレクトロ：1 × 10^{10} cfu/μg

その他、一般的なタンパク質発現用

商品		株	最大形質変換効率	掲載ページ
Champion™ 21（SMO 社） 速く、簡単に	ケミカル	BL21（DE3）	1 × 10^7 cfu/μg	19 ページ
HI-Control™（LUC 社） Leaky Expression を低減	ケミカル	BL21（DE3） 10G（DH10B）	1 × 10^7 cfu/μg 1 × 10^9 cfu/μg	20 ページ
BioElegen 社　BL21（DE3）（GMB 社） 日常的なタンパク質発現に	ケミカル	BL21（DE3）	1 × 10^6 cfu/μg	20 ページ
***E. cloni*® EXPRESS**（LUC 社） 優秀な形質転換効率	エレクトロ　ケミカル	BL21（DE3）	エレクトロ：5 × 10^9 cfu/μg ケミカル　：1 × 10^7 cfu/μg	21 ページ

クローニング用

Expresso® シリーズ（LUC 社）　➡ 22 ～ 27 ページ

T7 ／ T7 SUMO クローニング & 発現システム	Rhamnose クローニング & 発現システム
HI-Control™、もしくは *E.cloni*® シリーズのコンピテントセルを用いて、安定で厳密に制御されたタンパク質発現を実現	Expresso® Rhamnose Cloning Kit と *E.cloni*® 10G のコンピテントセルを用いた超簡単タンパク質発現

ファージディスプレイ用　エレクトロ

株	用途、特長	最大形質変換効率	掲載ページ
TG1	アンバーサプレッサー（supE）を持つ。ファージディスプレイやタンパク質発現に。	4 × 10^{10} cfu/μg	27 ページ
SS320 （別名：MC1061F'）	アンバーサプレッサーを持たない、F' を持つ。ファージディスプレイ用で、形質転換効率が非常に優れる。	4 × 10^{10} cfu/μg	
ER2738	アンバーサプレッサー（glnV）を持つ、New England Biolab 社 Ph.D.™ Phage Display Kits とのご使用を推奨。	2 × 10^{10} cfu/μg	
MC1061F-	アンバーサプレッサーを持たない。一般的なクローニングやファージディスプレイに適しています。遺伝子型は F' エピソームを持たない点以外は、SS320 株と同じで、繊維状ファージの再感染には使用できる。	—	

タンパク質大量生産受託
無細胞発現
大腸菌による発現
哺乳類細胞による発現
昆虫細胞による発現
酵母による発現
原生動物による発現
その他

▶▶▶ 大腸菌による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 11322

ClearColi® BL21（DE3）エレクトロコンピテントセル

BIOSEARCH TECHNOLOGIES

エンドトキシン除去工程必要なし！タンパク質発現用コンピテントセル

エレクトロ

ClearColi® 株は、タンパク質やプラスミド DNA から LPS を除去するのではなく、LPS を根源から除去することで機能的にクリーンなリコンビナントタンパク質とプラスミドの産生を可能にし、ほ乳類細胞のエンドトキシン応答を誘導しない改良された LPS（Lipid IV_A）を持つ初の市販のコンピテントセルです。

ClearColi® 株は hTLR4/MD-2 の活性化に対する外膜アゴニストを欠損しています。そのため、ClearColi® 株による hTLR4/MD-2 シグナルの活性化の程度は、野生型 *E. coli* に比べ数倍低く、ClearColi®BL21（DE3）株で産生させたタンパク質は実質的にエンドトキシン活性がないといっても過言ではありません。

特長

- ●遺伝的に修正した LPS は、ヒト細胞内でエンドトキシン応答を引き起こしません。
- ●哺乳動物細胞免疫原性テスト、毒性分析、タンパク質製剤研究などにご利用いただけます。
- ●膜タンパク質、脂質結合タンパク質の産生に有用です。
- ●BL21（DE3）細胞と同等のタンパク質発現で、エンドトキシン除去工程を必要としません。
- ●サイトカインアッセイでの偽陽性を減らし、結果の信頼性を向上します。

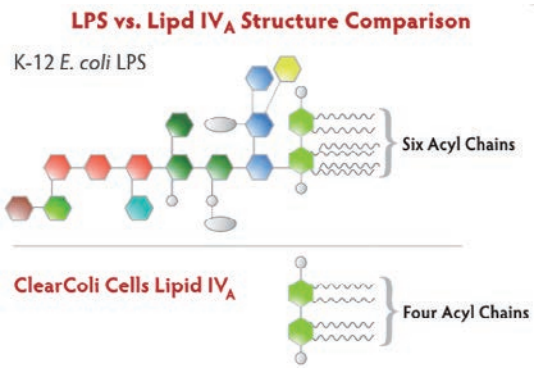


図 1　*E. coli* K-12 株の LPS と ClearColi® 株の Lipid IV_A との比較
アシル基の数を 6 つから 2 つに変異（LPS を Lipid IV_A に変異）させることで、エンドトキシンシグナルの活性化を無効化した。

構成内容

- ●ClearColi® BL21（DE3）エレクトロコンピテントセル
- ●発現回復培地（ラクトース：－）
- ●ポジティブコントロールプラスミド（スーパーコイル pUC19 DNA）

遺伝型情報

F^- *ompT hsdS*$_B$ (r_B^- m_B^-) *gal dcm lon* λ (DE3 [*lac*I *lac*UV5-T7 gene 1 *ind1 sam7 nin5*]) *msbA148* Δ*gutQ* Δ*kdsD* Δ*lpxL* Δ*lpxM* Δ*pagP* Δ*lpxP* Δ*eptA*

ClearColi® 株の遺伝型として、LPS を Lipid IV_A に変更する 7 つの特異的な欠損変異（Δ*gutQ* Δ*kdsD* Δ*lpxL* Δ*lpxM* Δ*pagP* Δ*lpxP* Δ*eptA*）と、LPS 前駆体である Lipid IV_A 存在下での生存能を維持するための 1 つの変異 *msbA148* を持っています。

また、LPS は 6 つのアシル基を持ちますが、Lipid IV_A のアシル基は 2 つ少ない 4 つで、これが非常に重要です。LPS の 6 つのアシル基は、Myeloid differentiation factor 2（MD-2）と複合体を形成した Toll-like receptor 4（TLR4）に認識され、NF-κB の活性化と炎症誘発性サイトカインの産生を誘導します。これに対し、4 つのアシル基しか持たない Lipid IV_A は、TLR4 により認識されず、エンドトキシン応答を誘導しません。

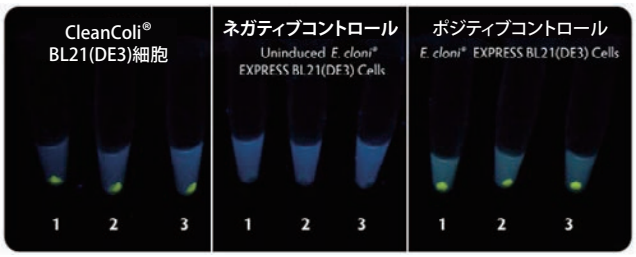


図 2　ClearColi® BL21（DE3）株と *E. Cloni*® EXPRESS BL21（DE3）株※の蛍光タンパク質発現の比較
T7 プロモーター制御下で発現する YFP を持つプラスミドを ClearColi® BL21（DE3）株と *E.cloni*® EXPRESS BL21（DE3）株に形質転換し、LB Miller 培地で培養、誘導した。同量の細胞数を遠心分離により沈殿させ、長波長 UV イルミネーションで撮影した。
※*E.cloni*® EXPRESS BL21（DE3）株は Lucigen 社が販売している所謂 BL21（DE3）株です。

［Lucigen Corporation.　メーカー略号：LUC］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
ClearColi® BL21 (DE3) Electrocompetent Cells (DUOs)	60810-1	12 rxns	¥63,000	凍
	60810-2	24 rxns	¥115,000	凍

●本製品は、非営利的の研究用として販売しており、ご注文の際に使用目的確認書にご署名をお願いしています。
商業用に使用される場合には、別途契約が必要ですのでお問い合わせください。

Lucigen Corporation.
メーカー略号：LUC

BIOSEARCH TECHNOLOGIES
GENOMIC ANALYSIS BY LGC

FAQ

Lucigen社 ClearColi® コンピテントセルについて

【01】ClearColi® コンピテントセルと、市販されている他のコンピテントセルとの違いは何ですか？

ClearColi® コンピテントセルは、ヒト細胞におけるエンドトキシン反応を引き起こさない、遺伝的に改変したリポ多糖（LPS）を有します。7 つの遺伝的な欠失（*ΔgutQ ΔkdsD ΔlpxL ΔlpxMΔpagPΔlpxP ΔeptA*）を組込むことで LPS を脂質 IV_A に改変しています。また、1 つの補償的変異（*msbA148*）を追加することで、脂質 IV_A 前駆体の存在下での細胞の生存能を保ちます。

【02】LPS と脂質 IV_A の違いは何ですか？

ClearColi® 細胞では、通常の 6 つアシル化された LPS から 2 つの二次アシル鎖が欠損しており、真核細胞における内毒性を決定する要因となっています。LPS の 6 つの アシル鎖は、MD-2（myeloid differentiation factor 2）と複合体を形成したトールライクレセプター 4（TLR4；Toll-like receptor 4）によって認識され、NF-κB の活性化と炎症誘発性サイトカインの産生を引き起こします。2 つの二次アシル鎖が欠損した脂質 IV_A は、活性化型のヘテロ 4 量体 hTLR4/MD-2 複合体の形成を誘導せず、エンドトキシン応答を引き起こしません。さらに、オリゴサッカロイド鎖の欠損により、生産物から脂質 IV_A を除去することが容易になります。

【03】LAL テストでエンドトキシンレベルを測定すると陽性反応がでます。なぜですか？

LAL（*Limulus* amebocyte Lysate）テストは、FDA に承認され、最も一般的に用いられているエンドトキシン検出法です。しかし、LAL テストは、エンドトキシン活性のある 6 つアシル基を持つ LPS と、エンドトキシン活性のない 4 つアシル基を持つ脂質 IV_A とを区別するのに、不適切な方法です。エンドトキシンが LAL カスケードを活性化するための構造条件は、ヒト免疫細胞系を刺激するための条件と異なります。ヒト免疫細胞では LPS/lipid A のアシル化パターンは刺激を決定する要因ですが、LAL カスケードの活性化はほとんどアシル鎖の数に依存しません。代わりに、LAL テストは 4'- モノホスホリル - ジグルコサミン骨格構造を必要としますが、これは 6 つアシル基を持つ LPS と、4 つアシル基を持つ *E. coli* の脂質 IV_A 両方にあります。このように、アッセイに特異性がないことから、偽陽性となることがあります。LAL テストは、ヒト免疫細胞システムの中枢的な細胞性エンドトキシンセンサーシステムよりも幅広い LPS/lipid A 変異体を認識します。

ClearColi® 細胞から産生されたタンパク質は、簡単なニッケルカラム精製工程により LAL 応答レベルを大幅に低下させることができます。例えば、ClearColi® 細胞と *E. cloni*® EXPRESS BL21（DE3）エレクトロコンピテントセルを用いて発現させた ApoA1 を比較すると、LAL 応答は 99% 低下しました。

細胞株	LAL 結果（EU/mg）	低下率
ClearColi® Electrocompetent Cells	450	99.1%
E. cloni® EXPRESS BL21 (DE3) Electrocompetent Cells	53,800	

外部からの LPS コンタミネーションが存在する場合を除いて、残留 EU が測定されるのは LAL テストの非特異性によります。例えば HEK- Blue™-4 細胞（InvivoGen 社）のような代替毒性試験は、研究者が通常目標とする閾値を超える EU レベルでも、ClearColi® 由来のタンパク質からは実際の免疫原性の影響はないことを示唆しています。

LAL テストの非特異的な性質により、ClearColi® 由来の脂質 IV_A で偽陽性のエンドトキシン活性が得られることがあります。生理学的に関連する別の方法を検討することをおすすめします。

【04】ClearColi® BL21（DE3）細胞からどのくらいのレベルのタンパク質発現が期待できますか？

十分な密度に増殖すると、ClearColi® BL21（DE3）細胞は通常の BL21（DE3）細胞と同レベルのタンパク質を産生します（同じ細胞数での比較）。タンパク質によって発現レベルが多少変化するかもしれません。

【05】ClearColi® BL21（DE3）細胞で発現したリコンビナントタンパク質の、可溶性や機能はどうなっていますか？

Lucigen 社が行った実験では、可溶性と機能性に関しては、通常の BL21（DE3）細胞と ClearColi® BL21（DE3）細胞で有意な差はありません。

【06】ClearColi® 細胞は哺乳類細胞で実際にエンドトキシンフリーですか？

ClearColi® 細胞由来の脂質 IV_A は、ヒト免疫細胞でエンドトキシン応答を誘導できないように改変されています。7 つの別々な遺伝子を欠損しているので、通常の LPS 産生に戻ることはありません。適切に管理すれば、下流のエンドトキシン除去工程の必要はなく、ClearColi® 細胞からプラスミドとタンパク質を得ることができます。しかし、LPS のコンタミネーションは研究室のいたるところにあるため、細胞株以外の LPS 供給源を最小限にするよう配慮が必要です。

脂質 IV_A は、ヒト LPS 応答性細胞のエンドトキシンアンタゴニストとして知られています。例えばマウス、チャイニーズハムスター、ウマ細胞などの他の哺乳類細胞で、4 つのアシル基を持つ LPS 前駆体が、エンドトキシン活性化因子として作用する可能性があることを考慮しなければいけません。TLR4 と MD-2 の構造に種特異的な差異があることで、脂質 IV_A が動物種特異的な認識と刺激活性を示す可能性があります。

【07】タンパク質やプラスミドの内在性 LPS によるコンタミネーションを避けるにはどうすればいいですか？

滅菌技術により、外部の供給源からの LPS コンタミネーションを十分に管理できます。以下の予防策をおすすめします。

- ●滅菌・パイロジェンフリーのディスポーザブルのピペットチップや遠心管を使用する
- ●全てのガラス製品を使用する 1 時間前に 250℃以上で熱処理する
- ●通常の *E. coli* 株と接触した精製カラムや樹脂を使用しない
- ●低エンドトキシンが保証された試薬を使用するか、使用前に試薬の検査を行う
- ●エンドトキシン検査された水を使用する
- ●消毒薬で実験室を清浄にする

次ページに続く

【08】ClearColi® を使用する時、精製後のエンドトキシンを測定する必要がありますか？

低レベルのエンドトキシンレベルであっても、それが重大な意味を持つアプリケーションでは、一般的な全ての予防策を行うことを強くおすすめします。外部からのコンタミネーションが起こる可能性があり、LPS がまったく存在しないという保証はありません。安全対策とその後のアプリケーションについては、ご自身で最善を尽くす必要があります。

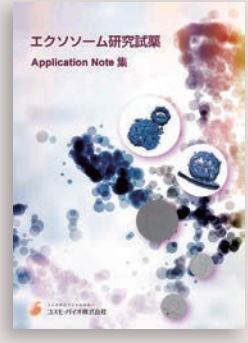
【09】精製後のエンドトキシン除去は必要ですか？

エンドトキシン測定の方法とアプリケーションによります。前述のように、ClearColi® 細胞の脂質 IV_A はヒト細胞でエンドトキシン応答を引き起こしませんが、LAL テストを使用すると比較的低い EU 測定値を示す可能性があります。通常は、LAL レベルを閾値以下に低下させるには、簡単なプラスミド精製またはニッケルカラムでのタンパク質精製で十分です。エンドトキシンレベルをより低下させたい場合は、追加の精製ステップが必要です。

【10】ClearColi® BL21（DE3）細胞の成長速度はどのくらいですか？

ClearColi® BL21（DE3）細胞は、通常の BL21（DE3）細胞の約 50% の速度で増殖します。形質転換細胞を播種した後、24 時間程度で非常に小さなコロニーが見えることが予想されます。次の実験用にコロニーをピックするまでに 32 ～ 40 時間程度インキュベートすることをおすすめします。タンパク質発現の誘導に必要な細胞密度に到達するには、より長い成長時間がかかります。

神経研究ハンドブック



エクソソーム研究用試薬
アプリケーションノート集

グライコバイオロジー
ハンドブック第 3 版

RNAi ハンドブック
第 3 版

ゲノム編集ハンドブック
第 3 版

好評配布中！

コスモ・バイオのハンドブック

ウェブサイトからカタログ送付依頼【無料】ができます！
www.cosmobio.co.jp

▶▶▶ 大腸菌による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 2770

OverExpress™ Competent Cell

BIOSEARCH TECHNOLOGIES

毒性を持つタンパク質の発現系用コンピテントセル

ケミカル　エレクトロ

Lucigen 社の OverExpress™ コンピテントセルは、真正細菌や酵母、植物、ウイルス、哺乳類など、生物種を問わず、多くの毒性タンパク質の発現が可能なユニークなコンピテントセルです。BL21（DE3）株では発現困難な多くの膜タンパク質や細胞質タンパク質、ヌクレアーゼも OverExpress™ では容易に発現可能です。

OverExpress™ は表現型として毒性タンパク質に対して耐性を示すものが選択されており、遺伝的変異を含みます。C41（DE3）株は *E. coli* BL21（DE3）株から派生しており、多くの毒性タンパク質に対して耐性を持っています。C43（DE3）株はその C41（DE3）株から派生しており、C41（DE3）株とは異なる毒性タンパク質に対して耐性を示す菌株を選別したものとなっています。

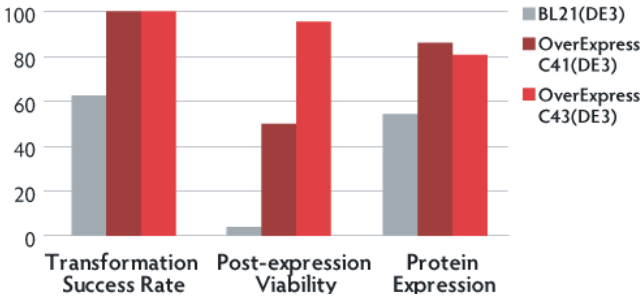
OverExpress™ は BL21（DE3）株同様に λ DE3 溶原菌で、LacUV5 プロモーター制御下に T7 RNA ポリメラーゼ遺伝子を持ち、Lucigen 社 pSMART®-cDNA ベクターなどの T7 誘導型タンパク質発現ベクターによる目的タンパク質の発現に適しています。

OverExpress™ pLysS 株は、T7 RNA ポリメラーゼの阻害剤である T7 リゾチームをコードするクロラムフェニコール耐性プラスミド pLysS を持ち、誘導前の T7 RNA ポリメラーゼを抑制することにより、特に毒性タンパク質をコードする組換え体を安定化させます。

OverExpress™ の他菌株との比較*

表　OverExpress™ C41（DE3）株、OverExpress™ C43（DE3）株と親株 BL21（DE3）株の形質転換効率および導入タンパク質発現率の比較

菌株	形質転換成功率[a]	毒性を誘導した発現[b]	プラスミドの発現[c]
BL21（DE3）	16/26（62%）	25/26（96%）	14/26（54%）
C41（DE3）	28/28（100%）	14/28（50%）	24/28（86%）
C43（DE3）	28/28（100%）	1/28（4%）	23/28（81%）



分母の 26（BL21）、28（C41、C43）は用いたプラスミドの種類数を示す。
a. プラスミドを用いた形質転換後、LB（アンピシリン含有）培地上でコロニーを得られた数を形質転換成功数とした。
b. プラスミドを用いた形質転換後、LB（アンピシリン、IPTG 含有）培地上でコロニーが得られなかった数を毒性が発現した数とした。
c. LB（アンピシリン含有）培地で培養し、IPTG で誘導後、クマシー染色でタンパク質の発現が確認できた数をタンパク質発現数とした。

＊ L. Dumon-Seignovert, G. Cariot, and L. Vuillard (2004). *Protein Expression and Purification* 37, 203-206. Data used with permission.

構成内容

- ●コンピテントセル
- ●発現回復培地〔ラクトース (-)〕
- ●pUC19 ポジティブコントロール
- ●pAVD10 確認用プラスミド

特長

- **●タンパク質発現系で優れた信頼性**
  組み換え遺伝子の発現の成功率を著しく増加します。
- **●毒性をもつタンパク質でも発現に成功、引用文献 350 報以上！**
- **●不活性な凝集体（inclusion body）の形成を低減**

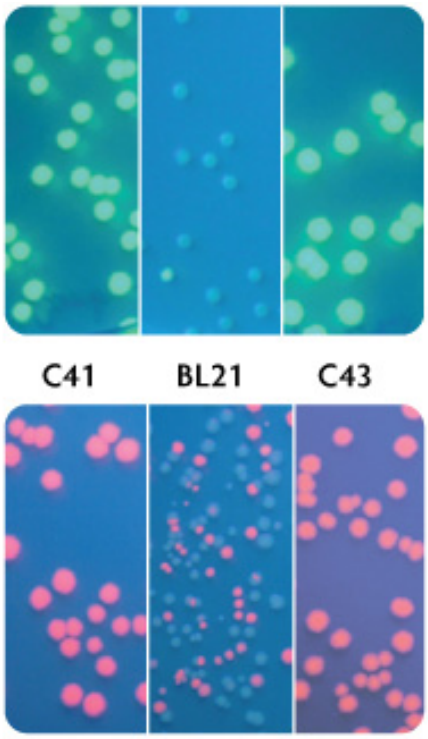


図　T7 プロモーター制御下における GFP および RFP の発現
GFP 発現プラスミドおよび RFP 発現プラスミドを OverExpress™ C41 株、BL21 株、OverExpress™ C43 株にそれぞれ導入後、IPTG を含む培地で培養した。

遺伝型情報

- **●OverExpress™ C41 (DE3)：**
  F – *ompT hsdSB (rB- mB-) gal dcm* (DE3)
- **●OverExpress™ C41 (DE3) pLysS：**
  F – *ompT hsdSB (rB- mB-) gal dcm (DE3) pLysS* (CmR)
- **●OverExpress™ C43 (DE3)：**
  F – *ompT hsdSB (rB- mB-) gal dcm* (DE3)
- **●OverExpress™ C43 (DE3) pLysS：**
  F – *ompT hsdSB (rB- mB-) gal dcm (DE3) pLysS* (CmR)

OverExpress™ コンピテントセルで発現に成功したタンパク質例

下表に示した毒性タンパク質以外にも様々な毒性タンパク質発現が OverExpress™ コンピテントセルで成功しています。
文献数 350 以上！ Lucigen 社 Web サイト（http://lucigen.com/Citations.html）にて実績詳細をご確認いただけます。

タンパク質	タイプ	生物種	菌株
Accelerated cell death 1 (ACD1)	–	*Arabidopsis thaliana*	C43 (DE3)
AcpM (malonyl acyl carrier protein)	–	*Mycobacterium tuberculosis*	C41 (DE3)
AcrA-AcrB-TolC multidrug efflux pump	Membrane	*Enterobacter aerogenes*	C43 (DE3)
ADP/ATP translocase	Membrane	Bovine	C43 (DE3)
AHSP (α-haemoglobin stabilizing protein)	–	Human	C41 (DE3)
AIDA-ß domain	Membrane	*Escherichia coli*	C41 (DE3)
AKR1C (aldo-keto reductase 1C)	–	Human	C41 (DE3)
ATP/ADP translocase	Membrane	*Rickettsia prowazekii*	C41 (DE3)
ATPase (V-ATPase subunit C)	Membrane	*Saccharomyces cerevisiae*	C41 (DE3)
BCR-ABL oncogenic protein	–	Human	C41 (DE3)
BcrC	–	*Bacillus subtilis*	C41 (DE3)
BmrA ATP Binding Cassette transporter	Membrane	*Escherichia coli*	C41 (DE3)
BRCT domain of 53BP1	–	Human	C41 (DE3)
C5 methyltransferase M.HaeIII	–	*Haemophilus influenzae*	C41 (DE3)
Cytochrome P450 CYP79B2	Membrane	*Arabidopsis thaliana*	C43 (DE3)
DNA polymerase	–	Bacteriophage T5	C43 (DE3)
Dystrophin 226	–	Rat	C41 (DE3)
EmrA (membrane fusion protein)	Membrane	*Escherichia coli*	C41 (DE3)
Estrogen receptor-related receptors	–	Human	C41 (DE3)
FtsH (Zn2+-metalloprotease)	Membrane	*Mycobacterium smegmatis*	C41 (DE3)
Glucocorticoid receptor ligand-binding domain	–	Human	C41 (DE3)
growth hormones gfGH-I /-II	–	Goldfish	C41 (DE3)
Heptad repeats HR1 & HR2	–	PPR virus	C41 (DE3)
IntI1 integrase	–	Transposon Tn21	C41 (DE3)
KMCP1 (kidney mitochondrial carrier protein-1)	Membrane	Mouse	C41 (DE3)
LH2 (light harvesting complex 2)	Membrane	Pea	C41 (DE3)
M2 proton channel	Membrane	Influenza A virus	C41 (DE3)
NA+/glucose cotransporter (hSGLT1)	Membrane	Human	C41 (DE3)
NS3 serine protease	–	Dengue virus Type 2	C41 (DE3)
Nsp9 protein	–	SARS coronavirus	C41 (DE3)
Orange fluorescent protein	–	*Cnidaria tube anemone Cerianthus sp.*	C41 (DE3)
p53	–	Human	C41 (DE3)
Rop1 (antisense RNA-binding protein)	–	*Escherichia coli*	C41 (DE3)
TAT-Bc1-2 delta loop protein	Membrane	Rat	C43 (DE3) pLysS
terpene synthases/cyclases	–	Rice (*Oryza sativa*)	C41 (DE3)
TnI (troponin inhibitory subunit)	–	Chicken	C41 (DE3)
Tocopherol cyclase	–	Zea mays	C43 (DE3)
Ubiquitin E3 ligase MDM2	–	Human	C41 (DE3)
UCP1 (uncoupling protein 1)	Membrane	Mouse	C41 (DE3)
UCP1 anion carrier	Membrane	Rat	C41 (DE3)
UDP-N-acetylglucosamine acyltransferase	–	*Helicobacter pylori*	C41 (DE3)
YibK	Membrane	*Haemophilus influenzae*	C41 (DE3)
YvcC, a multidrug ATP-binding cassette transporter	Membrane	*Bacillus subtilis*	C41 (DE3)
KasA (beta-ketoacyl-ACP synthase)	Membrane	*Mycobacterium tuberculosis*	C41 (DE3) pLysS

［Lucigen Corporation.　メーカー略号：LUC］

品名／内容	仕様	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
OverExpress™ C41 (DE3) Cells	Electrocompetent Cells	60341-1	12 rxns（SOLOs）	¥59,000	凍
OverExpress™ C41 (DE3) Cells	Chemically Competent Cells	60442-1 60442-2	12 rxns（SOLOs） 24 rxns（SOLOs）	¥44,000 ¥66,000	凍 凍
OverExpress™ C41 (DE3) pLysS Cells	Chemically Competent Cells	60444-1 60444-2	12 rxns（SOLOs） 24 rxns（SOLOs）	¥44,000 ¥66,000	凍 凍
OverExpress™ C43 (DE3) Cells	Electrocompetent Cells	60345-1 60345-2	12 rxns（SOLOs） 24 rxns（SOLOs）	¥59,000 ¥105,000	凍 凍
OverExpress™ C43 (DE3) Cells	Chemically Competent Cells	60446-1 60446-2	12 rxns（SOLOs） 24 rxns（SOLOs）	¥44,000 ¥66,000	凍 凍
OverExpress™ C43 (DE3) pLysS Cells	Chemically Competent Cells	60448-1 60448-2	12 rxns（SOLOs） 24 rxns（SOLOs）	¥44,000 ¥66,000	凍 凍
OverExpress™ ChemComboPack ●上記 4 菌株が各 3 反応分入ったパック	Chemically Competent Cells	60452-1	12 rxns	¥44,000	凍

包装形態は 1 rxn ／ 1 vial（SOLOs）となります。例：12 rxns → 12 vials

FAQ

Lucigen Corporation.
メーカー略号：LUC

BIOSEARCH TECHNOLOGIES
GENOMIC ANALYSIS BY LGC

【01】OverExpress™ 株の中でどれを選ぶべきですか？

任意のタンパク質を発現させる場合に、4 種類の OverExpress™ 株（C41（DE3）、C43（DE3）、C41（DE3）pLysS、C43（DE3）pLys）の中でどれが最適かを予測することは困難です。はじめてご利用いただく際には、4 種類の OverExpress™ コンピテントセルが各 3 反応分セットになっている ComboPack をご利用いただき、ご自身のアプリケーションに最適な菌株を決定することをおすすめしています。

本製品は、ケミカルコンピテントセルとエレクトロコンピテントセルからお選びいただけます。C41（DE3）および C43（DE3）のいずれも内在性の抗生物質耐性を持ちませんが、pAVD10 確認用ベクターを導入することでそれぞれの菌株と BL21（DE3）を区別することができます。pAVD10 は、T7 プロモーターの制御下にある uncF 遺伝子（大腸菌 ATPase の b サブユニットをコードする）を含んでおり、BL21（DE3）に導入すると致死、C41（DE3）では IPTG 誘導時に致死となりますが、C43（DE3）では常に許容されます。pAVD10 は、各 OverExpress™ コンピテントセル製品に付属しています。

【02】どのような場合に OverExpress™ コンピテントセルを使用する必要がありますか？

OverExpress™ コンピテントセルは、毒性を示すタンパク質や膜タンパク質を T7 系で発現させる場合に使用できます。これらの有効性は、細菌、酵母、植物、ウイルス、および哺乳動物を含む全クラスの生物由来の毒性タンパク質発現で実証されています。

【03】なぜ、OverExpress™ コンピテントセルは毒性タンパク質の発現に適しているのですか？

OverExpress™ 細胞は、毒性タンパク質に対する耐性を付与するために表現型から選抜された遺伝子変異を含みます。BL21（DE3）由来の C41（DE3）株は、毒性を持つ多くのリコンビナントタンパク質発現に伴う細胞死を防ぐための変異を少なくとも一つ含んでいます。C43（DE3）株は、C41（DE3）由来で、C41（DE3）とは異なる毒性タンパク質に対する耐性で選抜しているため、C41（DE3）とは異なる毒性タンパク質を発現することができます。

次ページに本商品のアプリケーションノートを掲載しています。

研究者が使ってみました！

Application Note あぷりけーしょんのーと

植物 P450 を発現させた OverExpress™ C41 (DE3) による微生物変換

ユーザーレポート 内田　開　Uchida Kai

日本大学 生物資源科学部 応用生物科学科

（現　理化学研究所 環境資源科学研究センター）

Products

- OverExpress™ C41 (DE3) Chemically Competent Cells
（品番：60442-1）
メーカー：Lucigen Corporation.　メーカー略号：LUC

私は植物の二次代謝生合成、特にマメ科植物のイソフラボノイド生合成に関与する酵素の生化学的機能解析を主として行っている。この研究には酵素アッセイの基質となるイソフラボノイドが必須であるが、これは市販されていないか非常に高価な場合が多いため、何かしらの方法で調製する必要がある。その際、私は酵素遺伝子を導入した組換え微生物による微生物変換を用いて基質の調製を行っている。私はこれまで、膜タンパク質である植物の cytochrome P450 (P450) の発現用宿主には真核生物である酵母を用いてきたが、低収量や夾雑物による産物精製の煩雑化などの問題があった。そこで、大腸菌を用いて P450 を効率的に発現させる方法を検討することにした。

P450 の大腸菌発現を考えた時、菌株の種類は発現効率に影響する大きな要因の一つである。しかし、どの菌株が発現に有効かどうかは実際に実験してみるまではわからない上に、最適な発現条件は菌株、目的タンパク質ごとに異なるため、複数の菌株での条件検討は多大な労力を要し、得策ではないと判断した。そこで、毒性タンパク質を含む広範囲のタンパク質発現に対応できる大腸菌株を用いて発現条件を検討することにした。

現在、タンパク質発現用の大腸菌は様々なものが販売されているが、毒性タンパク質の発現に有効とされている大腸菌は少ない。OverExpress™ シリーズは長い間販売されており、これを使用した数多くの文献が存在したため、この中から OverExpress C41™ (DE3) を用いて P450 発現による微生物変換を試みた。

P450 の発現には isoflavone 2′-hydroxylase (I2′H, ダイズ由来) (図 1) と、同じく膜タンパク質で P450 の活性に必要である cytochrome P450 reductase (CPR, ミヤコグサ由来) を用いた。これらを一般的な T7 発現系ベクターに導入し、このベクターで OverExpress™ C41 (DE3) を形質転換後、その培養液に IPTG とアミノレブリン酸 (品番：AL-00-1) および基質として daidzein を添加し、24 時間培養後、抽出物を HPLC で分析した。その結果、I2′H 産物の 2′-hydroxydaidzein が明確に検出された (図 2) ことから、I2′H と CPR を共発現させた OverExpress™ C41 (DE3) による効率的な微生物変換が可能であることがわかった。同様の方法で様々なファミリーの植物 P450 を発現させたところ、いくつかの P450 では産物がほとんど検出できなかったものの、多くの P450 で多量の産物が検出された。また、可溶性の酵素に関してはほぼ問題なく発現できたことから、OverExpress™ C41 (DE3) は P450 を含む多くのタンパク質の発現に効果的であると考えられる。

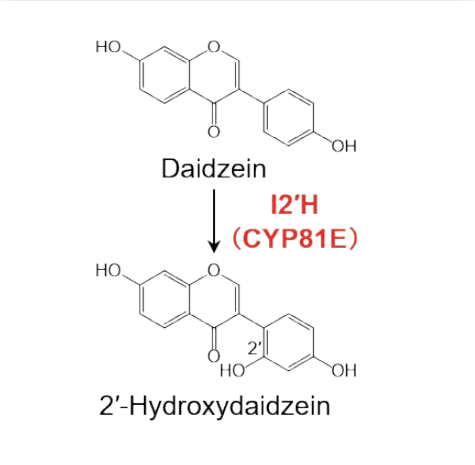


図 1　Isoflavone 2′-hydroxylase (I2′H) の反応

また一般に、タンパク質発現用コンストラクトを構築する

敬称は省略させていただきます

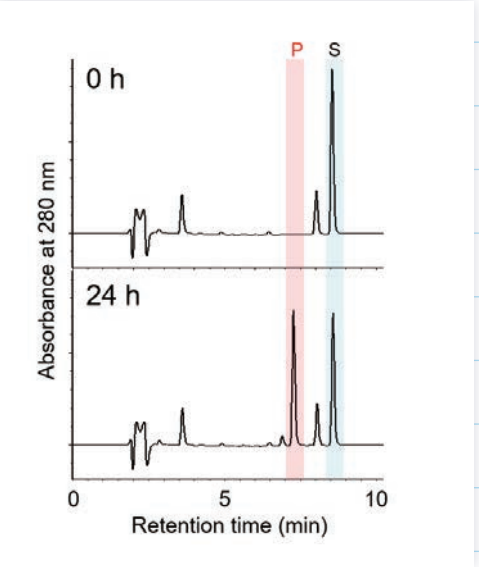


図 2　I2′H と CPR を共発現させた大腸菌を用いた微生物変換の HPLC 分析クロマトグラム

上：培養 0 時間後、下：培養 24 時間後
S: 基質、P: 産物 10 μm を表している。

際、毒性タンパク質をコードする配列を含むとコロニーが生じない、菌が増殖しないなどの問題が生じることが知られている。実際に私も同様の現象を経験したが、その場合はクローニング用大腸菌の代わりに OverExpress™ C41 (DE3) を用いることで問題なくコンストラクトの作製と回収が行えた。よって、OverExpress™ C41 (DE3) は毒性タンパク質発現用コンストラクトの作製にも有効であると思われる。

今回、OverExpress™ C41 (DE3) は様々なタンパク質発現ができる可能性が示唆された。したがって、OverExpress™ C41 (DE3) は毒性タンパク質に限らず、タンパク質発現用菌株のファーストチョイスとして最適だと思われる。

こちらを使ってみました！

Lucigen®
Simplifying Genomics

OverExpress™ Competent cell

メーカー：Lucigen Corporation.　メーカー略号：LUC

毒性タンパク質の発現に有用なコンピテントセルです！
詳細は本誌 13 ページで紹介しています。

品名	品番	包装	希望販売価格
OverExpress™ C41 (DE3) Chemically Competent Cells (SOLOs)	60442-1	12反応	¥44,000
	60442-2	24反応	¥66,000

タンパク質大量生産受託
無細胞発現
大腸菌による発現
哺乳類細胞による発現
昆虫細胞による発現
酵母による発現
原生動物による発現
その他

▶▶▶ 大腸菌による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 7528

SoluBL21™ *E.coli* コンピテントセル

Genlantis
A division of Gene Therapy Systems, Inc.

可溶性タンパク質として発現可能！

Genlantis 社が開発した SoluBL21™ コンピテントセルは、独自の技術で開発した BL21（DE3）の変異株で、不溶性タンパク質として発現していたタンパク質を可溶性タンパク質として発現することが可能です。

部分的に可溶性になった場合でも、培養液の量を増やすだけで簡単に十分な量のタンパク質を得ることができます。この SoluBL21™ コンピテントセルによって、ほとんどの哺乳動物可溶性タンパク質が大腸菌で発現できるようになりました。

背景

大腸菌における哺乳動物タンパク質の発現は、簡便で低コストであることが重要です。しかし、BL21（DE3）のような大腸菌株は高い割合で哺乳動物タンパク質を不溶性タンパク質として発現してしまいます。従来、大腸菌における可溶性タンパク質の発現には、低温発現、プロモーターの変更、精製タグの付加、培地の変更、タンパク質リフォールディングなどのアプローチによって、時間的にも、労力においても高いコストがかかっていました。

特長

- ●可溶性タンパク質発現に最適化した大腸菌株
- ●T7 プロモーターを使用した発現ベクターと互換性有
- ●簡便なプロトコール

構成内容

- ●SoluBL21™ Competent *E. coli*
- ●SOC Medium
- ●pUC19 Positive Control Plasmid

遺伝子型と最大形質転換効率

- ●遺伝子型：F^- *ompT hsdS*$_B$ (r_B^- m_B^-) *gal dcm* (DE3)
- ●形質転換効率：10^6 cfu/μg（ケミカル用）、
  10^{10} cfu/μg（エレクトロポレーション用）

製品データ

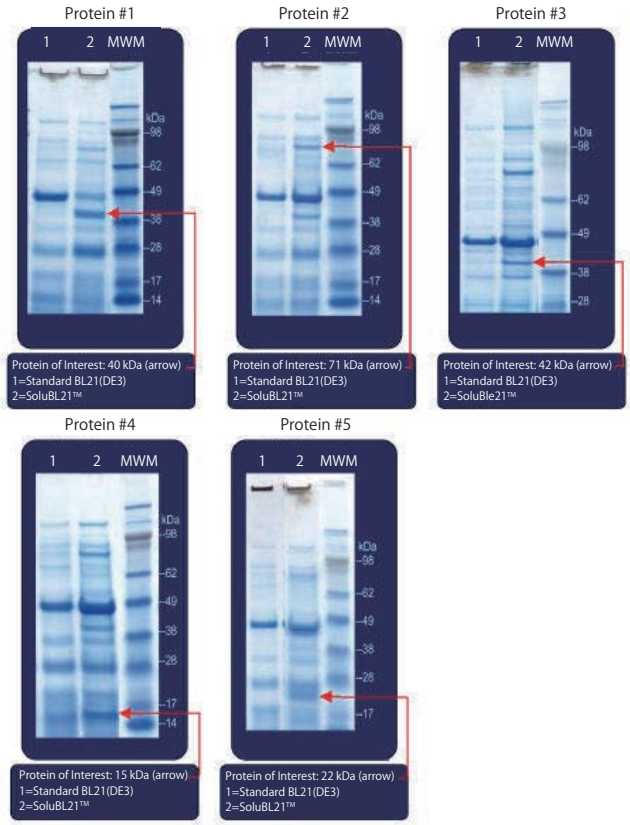


図 ヒトおよび他の哺乳動物由来のタンパク質（細胞周期、ATP 結合、トランスフェラーゼ、キナーゼタンパク質等）をコードするクローンを BL21（DE3）および SoluBL21™ で発現させ SDS-PAGE で比較した。SoluBL21™ では、従来不溶性だったタンパク質の～ 70% を可溶性タンパク質として発現できた。

［Genlantis, A division of Gene Therapy Systems, Inc.　メーカー略号：GEN］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
SoluBL21™ Chemically Competent *E. coli*	C700200	10 × 50 μL	¥66,000	冷凍
SoluBL21™ Electrocompetent *E. coli*	C700210	10 × 20 μL	¥74,000	冷凍

エレクトロポレーション用キュベット cell projects

- 幅広いエレクトロポレーターで使用可能
- バクテリア、酵母、昆虫、植物、動物細胞に最適
- ギャップ幅：1mm、2mm、4mm のキュベット
- 高品質ポリカーボネート製
- 個別包装、γ照射滅菌済

記事 ID 669 検索

▶▶▶ 大腸菌による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 34535

BL21（DE3）コンピテントセル、Champion™ 21

SMOBiO® Small Bio, Smart Tool

速く、簡単に使用できる定番のコンピテントセル

ケミカル

優れた形質転換効率を発揮するよう設計された SMOBIO 社の BL21（DE3）株のケミカルコンピテントセルです。T7 ベースのベクターを用いたタンパク質発現に適しています。用途に合わせて、標準的な形質転換プロトコールの他に、時間短縮版の簡易プロトコールもご利用いただけます。

プロトコールの選択方法

- ●大きなプラスミド（＞6 kb）またはアンピシリン以外のセレクション使用の場合…標準プロトコール
- ●単純で迅速な形質転換の場合…時間短縮版簡易プロトコール

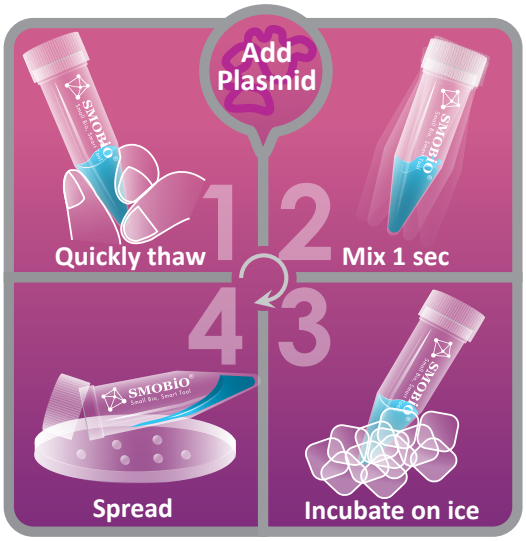
構成内容

- ●Champion™ コンピテントセル
- ●pUC19 コントロールプラスミド（5 μL, 10^{-4} μg/μL）

遺伝子型と最大形質転換効率

- ●F' ompT hsdS$_B$ ($r_B^-m_B^-$) dcm gal λ (DE3)
- ●最大形質変換効率：10^7 cfu/μg

時間短縮版簡易プロトコール

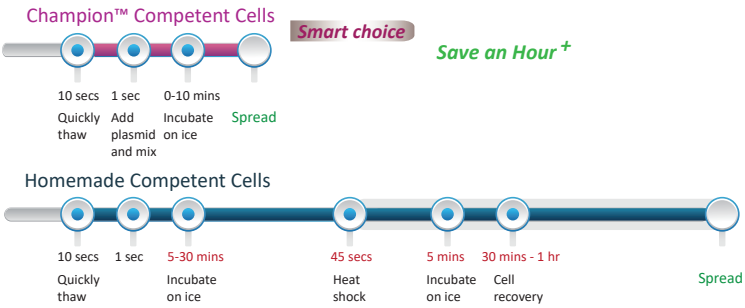


Notice: the antibiotic concentration for Champion™ Competent Cells

Ampicillin (Ap)	20 μg / ml
Kanamycin (Km)	25 μg / ml
Tetracycline (Tc)	7.5 μg / ml
Chloramphenicol (Cm)	20 μg / ml

①−70℃で保存したコンピテントセルを手（体温）で 10 ～ 20 秒間すばやく解凍し、解凍したコンピテントセルを氷上に置く。
② DNA（ライゲーション産物など）を①に加え、DNA の量をコンピテントセルの体積の 10% 未満に保つ。
③ 1 秒間ボルテックスするか、指でチューブを軽くたたいてよく撹拌する。
④氷上で 0 ～ 10 分間インキュベートする。（氷上でのインキュベーションにより、形質転換効率がわずかに向上する。）*
⑤コンピテントセル / DNA 混合物を予熱した（室温から 37℃）選択的 LB 寒天プレート（LB + 抗生物質）にプレーティングする。
⑥コロニーが分析に適した状態になるまで、プレートを 37℃でインキュベートする。

*注意：
標準プロトコールの場合には上記の他に追加操作が必要となります。



［SMOBIO TECHNOLOGY, INC.　メーカー略号：SMO］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
BL21 (DE3) competent cell, Champion™ 21	CC2104	24 rxns	¥14,500	凍
	CC2102	80 rxns	¥39,000	凍

■関連商品　Champion™ *E. coli* Transformation Kit

形質転換効率の高いケミカルコンピテントセルを短時間で、作製を可能とする培地やバッファーのセット品です。コンピテントセルは、対数増殖期の培養液、静止期の培養液、ならびにプレート上で培養したコロニーからでも作製可能です。本キットでは洗浄に要する時間を短縮し、様々な培養段階の大腸菌から調製可能なことでクローニング実験に幅を持たせています。調製したコンピテントセルは即使用可能で、マイナス 70℃で 1 年保存可能です。
簡略化され短時間で調製可能なうえ、その形質転換効率は 10^8 ～ 10^9 cfu/μg transformants/μg of pUC19 プラスミド DNA です（大腸菌の種類に依存します）。

特長

- ●対数増殖期の培養液、静止期の培養液、ならびに寒天培地等、様々な培養段階の大腸菌から調製可能
- ●わずか数ステップで調製可能
- ●高効率：～ 10^9 cfu/μg
- ●多くの大腸菌株に適応（DH5α、BL21、JM109 等）

構成内容

- ●Champion™ CC バッファー
- ●SMO-Broth™
- ●pUC19 コントロールプラスミド

［SMOBIO TECHNOLOGY, INC.　メーカー略号：SMO］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Champion™ *E. coli* Transformation Kit	CK1000	200 rxns	¥20,000	冷

▶▶▶ 大腸菌による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 42726

HI-Control™ BL21 (DE3) ／ HI-Control™ 10G コンピテントセル

BIOSEARCH TECHNOLOGIES

Leaky Expression を低減

ケミカル

HI-Control™ 株は、*E. cloni*® 10G（DH10B）および BL21（DE3）株に基づいたコンピテントセルです。構成的な *lac* I リプレッサー遺伝子を持つプラスミドを持っており、*lac* O オペレーターを含むプロモーターを厳密に制御することで、Leaky Expression を低減させます。

特長

- **Leaky Expression の低減**：*lac* I リプレッサータンパク質は *lac* O オペレーターに結合し、下流の遺伝子の転写をブロックします。ラクトースや IPTG などによる誘導がない場合、隣接するプロモーターからの標的タンパク質の発現は大幅に低減させます。
- **高いタンパク質収量**
- **高効率な形質転換**：非常に効率的なコンピテントセルなので、少量のプラスミド DNA から優れた結果をもたらします。

遺伝型情報

- **HI-Control™ BL21 (DE3)：**
  F- *ompT hsdSB* (rB^- mB^-) *gal dcm* (DE3) Mini-F *lacI*^{q1} (Gent^R)
- **HI-Control™ 10G：**
  mcrA Δ (*mrr-hsdRMS-mcrBC*) *endA1 recA1* φ80d*lac* ZΔM15 *lacX74 araD139* Δ (*ara,leu*) 7697 *galU galK rpsL* (Str^R) *nupG* λ - *tonA* Mini-F *lacI*^{q1} (Gent^R)

表

	Tightly Control Protein Expression		ターゲット発現のバックグラウンドが少ないクローン	トランスフォーメーション効果
	T7 プロモーター	Non-T7 *lac* プロモーター（T5-*lac*, tac, trc, *lac*）		
HI-Control™ BL21 (DE3)	●	●	—	≥ 1 × 10^7 cfu/μg
HI-Control™ 10G	—	●	●	≥ 1 × 10^9 cfu/μg

［Lucigen Corporation.　メーカー略号：LUC］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
HI-Control™ BL21 (DE3) Chemically Competent Cells (SOLOs)	60435-1	12 rxns	¥36,000	凍
HI-Control™ 10G Chemically Competent Cells (SOLOs)	60110-1	12 rxns	¥36,000	凍

▶▶▶ 大腸菌による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 17799

BL21（DE3）コンピテントセル

BioElegen

E.coli の形質転換にご利用いただける BL21（DE3）コンピテントセルです。1 回の操作で使い切れる量に分注してご提供しています。

ケミカル

遺伝子型と最大形質転換効率

- 遺伝子型：F- hsdS gal
  (λcIts857 ind1Sam7 nin5 lacUV5-T7 gene 1)
- 最大形質転換効率：10^6 cfu/μg

構成内容

- コンピテントセル
- ポジティブコントロール DNA（100 pg/μL）
- SOC 培地

プロトコール

＜準備＞

①ウォーターバスの電源を入れ、42℃に設定する。
②SOC 培地を室温になるまで温める。
③適切な抗生物質、0.1 mM IPTG、40 μg/mL X-gal を含む LB プレートを用意する。（または、50 μL の 50 mg/mL X-gal、100 μL の 100 mM IPTG を、抗生物質を含む LB プレート上に広げ、細胞を播種する前に少なくとも 30 分間、37℃でインキュベートする。）

＜実験手順＞

①コンピテントセル（1 回の形質転換につき 1 チューブ）を氷上で解凍
②1 ～ 2 μL のライゲーションミクスチャーを細胞に添加し、ピペットチップでそっとかき混ぜるか、チューブを軽くたたいて混合
③チューブを 10 ～ 30 分間、氷上でインキュベート
④細胞に 30 秒間、42℃でヒートショックを与える
⑤チューブを 2 分間氷上に置いた後、250 μL の SOC 培地を添加し、振とう（225 rpm）しながら 45 分～ 1 時間、37℃でインキュベート
⑥LB プレートに、形質転換細胞を 50 ～ 200 μL 播種する。残りの細胞は、4℃で保存すると、翌日播種することができる

［BioElegen Technology Co., Ltd (Former Gmbiolab Co., Ltd)　メーカー略号：GMB］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
High effieciency BL21(DE3) Competent Cell	BL01-20	20 rxns	¥7,000	凍
	BL01-100	100 rxns	¥27,000	凍

■関連商品

［BioElegen Technology Co., Ltd (Former Gmbiolab Co., Ltd)　メーカー略号：GMB］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
S.O.C medium	GB37	10 mL	¥5,000	凍

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 7593

E. cloni® EXPRESS BL21（DE3）コンピテントセル

BIOSEARCH TECHNOLOGIES

可溶性タンパク質発現に！　優秀な形質転換効率！

ケミカル　エレクトロ

E. cloni® EXPRESS BL21（DE3）株は、一般的なタンパク質発現用として最適な、*E. coli* T7 発現ベクターを用いたタンパク質発現系用のコンピテントセルです。エレクトロコンピテントセルとケミカルコンピテントセルの両方をご用意しています。

本菌株は形質転換効率が非常に優秀です。特にエレクトロコンピテントセルは、高効率のクローニングと高いレベルでのタンパク質発現の両方を可能にしました。競合他社の BL21 細胞と比べて、クローニング効率が 25 ～ 1,000 倍高いことが確認されています（図 1）。その比類ないトランスフォーメーション効率の高さ（≧ 5 × 10^9 cfu/μg）ゆえに、プラスミドをクローニング株から発現株に移す必要がなく、従来のクローニング・発現実験の作業日数を削減することが可能です（図 2）。

特長

- ●低コストで日常のタンパク質発現業務にご利用いただけます。
- ●形転換効率：エレクトロコンピテントセル：≧ 5 × 10^9 cfu/μg
  ケミカルコンピテントセル：≧ 1 × 10^7 cfu/μg

構成内容

- ●*E. cloni*® EXPRESS BL21（DE3）コンピテントセル
- ●発現回復培地〔ラクトース (-)〕
- ●pUC19 ポジティブコントロールプラスミド

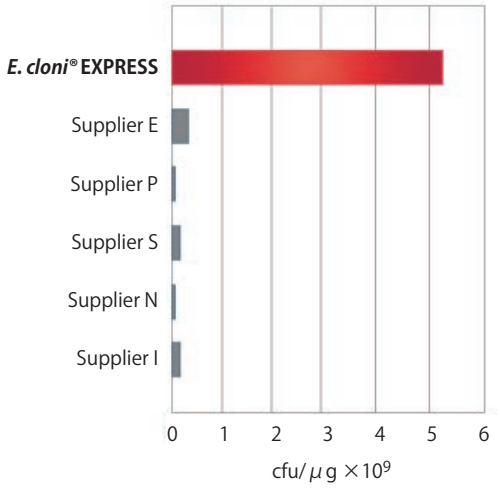


図 1　BL21（DE3）コンピテントセルのトランスフォーメーション効率比較

遺伝型情報

F– *ompT hsdSB (rB- mB-) gal dcm lon λ* (DE3 [*lacI lac* UV5-T7 gene 1 *ind1 sam7 nin5*])

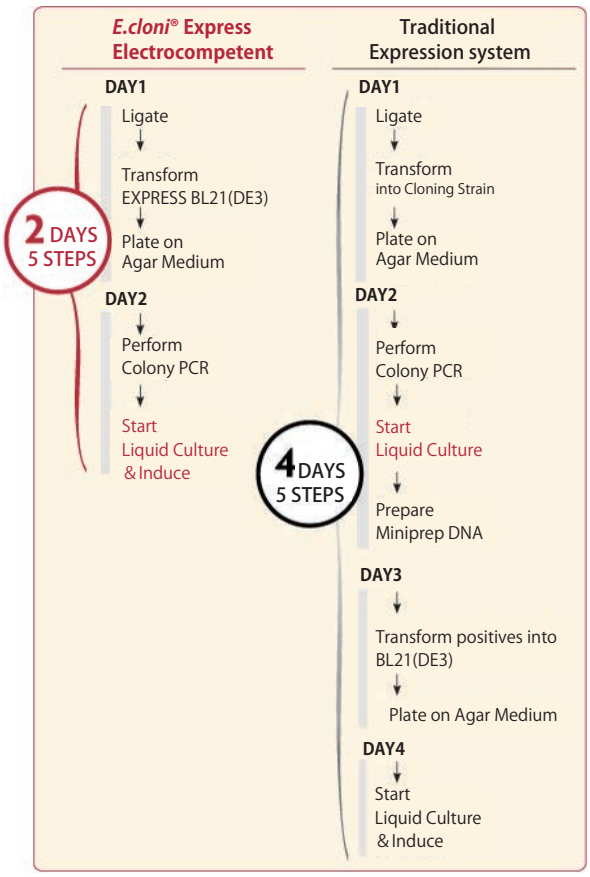


図 2　工程

［Lucigen Corporation.　メーカー略号：LUC］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
E. cloni® EXPRESS BL21(DE3) Electrocompentent Cells (DUOs)	60300-1	12 rxns	¥26,000	凍
	60300-2	24 rxns	¥47,000	凍
E. cloni® EXPRESS BL21(DE3) Chemically Competent Cells (DUOs)	60401-1	12 rxns	¥16,000	凍
	60401-2	24 rxns	¥23,000	凍
	60401-3	48 rxns	¥33,000	凍

Expresso シリーズ　セレクションガイド

	紹介ページ	高レベルのタンパク質発現	不溶性タンパク質の発現	毒性タンパク質の発現	発現条件の最適化	ハンスフリーの自動発現
Expresso® T7 クローニング & 発現システム	22 ページ	★★★		★		★
Expresso® T7 SUMO クローニング & 発現システム	24 ページ	★★★	★★	★		★
Expresso® Rhamnose クローニング & 発現システム	26 ページ	★★		★★	★★	★★★
Expresso® Rhamnose SUMO クローニング & 発現システム	–	★★	★★	★★	★★	★★★

▶▶▶ 大腸菌による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 6241

Expresso® T7 クローニング & 発現システム

BIOSEARCH TECHNOLOGIES

遺伝子クローニングからタンパク質発現を驚くほど迅速かつ簡便に

Expresso® T7 クローニング & 発現システムは PCR 増幅させた遺伝子を迅速かつ簡単にダイレクトクローニングし、高発現させるための画期的なシステムです。

このシステムはすでに前処理された pETite™ クローニングベクター（N 末端もしくは C 末端 6 × His-tag）と 2 種類のコンピテントセルから構成されています。この 2 種類のコンピテントセルのうち、高い効率性を持つ HI-Control™ 10G Chemically Competent Cells が安定なクローニングを可能にし、HI-Control™ BL21（DE3）Chemically Competent Cells が厳密に制御されたタンパク質発現を実現します（2 つの HI-Control™ 株は 20 ページでご紹介）。これにより従来の T7 プロモーターをベースとした発現システムの問題を解消し、Ni クロマトグラフィーによる N 末端もしくは C 末端 6 × His-tag 付加タンパク質の迅速な精製が可能です。

構成内容

- ●Expresso® T7 Cloning Kit（pETite クローニングベクター、ポジティブコントロール DNA、シーケンス用プライマーを含む）
- ●HI-Control™ 10G Chemically Competent Cells（コントロールベクター、回復培地を含む）（20 ページでご紹介）
- ●HI-Control™ BL21（DE3）Chemically Competent Cells（コントロールベクター、回復培地を含む）（20 ページでご紹介）

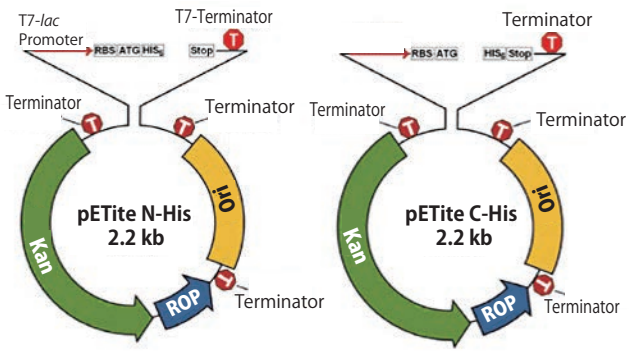


図 1　pETite™ T7 Expression Vector
従来の pET28a（5.4 kb）に比べてサイズが小さく（2.2 kb）、クローニング後のより簡単な操作が可能。ベクターは PCR 産物を酵素なしで迅速にクローニングするために前処理されており、N 末もしくは C 末の融合 6 × His-tag が選択可能。

特長

- ●時間を節約！ クローニング可能なベクターと細胞を使用して、酵素を使用せずに数秒でクローニングが可能
- ●高効率：＞90%の組換え体
- ●N 末端または C 末端の 6 × His-tag 付きタンパク質の厳密に制御された発現

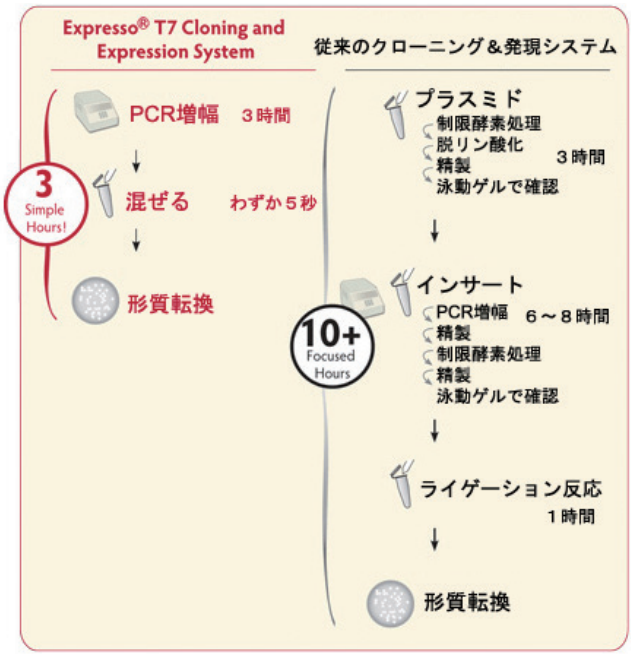


図 2　Expresso® T7 クローニングと従来のクローニング方法の比較

原理と使用方法

1. 目的遺伝子を適切な PCR プライマー（上流、下流共に 18 bp ほどベクター相補的な配列を持たせる）を用いて増幅させる。
2. 未精製の PCR 産物と、線状の pETite™ ベクター、HI-Control™ 10G Chemically Competent Cells を Mix する（反応時間はわずか 5 秒）。
3. ヒートショックによる形質転換を行い、カナマイシンを含むプレート上で組換え体をセレクションする。この時、ベクターとインサートの両端がそれぞれ相同組換えによって組み換わったプラスミドを持つクローンのみが選択される。
4. PCR や制限酵素処理、もしくはシーケンスを確認し、組換えクローンを確認する。
5. HI-Control™ BL21（DE3）Chemically Competent Cells に形質転換し、目的遺伝子を発現させる。

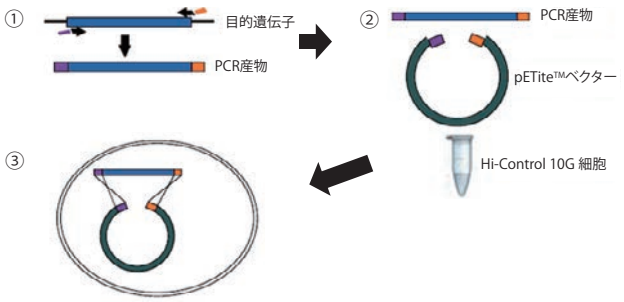


図 3　Expresso® クローニングシステム

製品データ

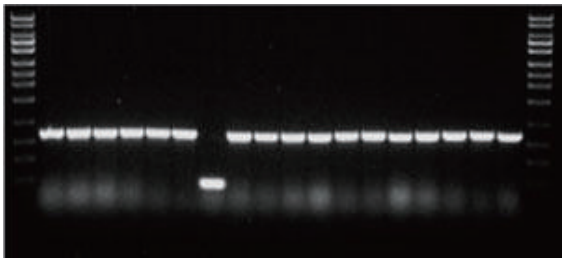


図 4　Expresso® T7 Cloning and Expression System を用いた高いクローニング効率
pETite™ C-His vectorを1eのPCR反応液と混ぜ、HI-Control™ 10G Chemically Competent Cells に形質転換する試験の結果、ランダムに選択した 18 コロニーのうち 17 コロニーが正確なインサートを含むことが確認された。

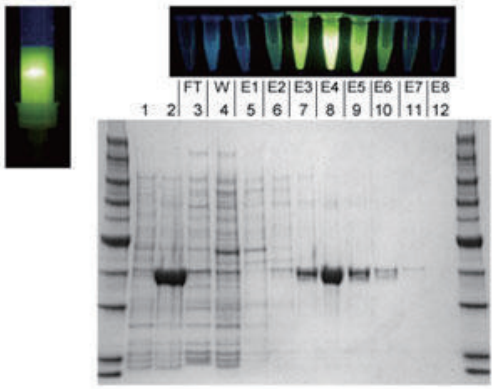


図 5　可溶性蛍光タンパク質の発現と精製
His-tag タンパク質の精製：HI-Control™ BL21（DE3）Chemically Competent Cell には、黄色蛍光タンパク質を組み込んだ pETite™ C-His ベクターを形質転換、それを LB 培地、37℃で OD_{600} が 0.6（レーン 1）の時、1 mM IPTG で 4 時間誘導（レーン 2）。細胞は 300 mM NaCl、50 mM Tris-HCl pH8.0 で、超音波処理して溶解。精製したライセートを Ni-NTA セファロースに添加。非吸着画分（レーン 3、FT）、洗浄（レーン 4、W）の各画分を集めた。結合している YFP は、300 mM イミダゾールを含む洗浄バッファーで溶出した（レーン 5 ～ 12、E1 ～ E8）。

［Lucigen Corporation.　メーカー略号：LUC］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Expresso® T7 Cloning and Expression System, N-His	49001-1	5 rxns	¥49,000	凍凍
	49001-2	10 rxns	¥91,000	凍凍
Expresso® T7 Cloning and Expression System, C-His	49002-1	5 rxns	¥49,000	凍凍
	49002-2	10 rxns	¥90,000	凍凍

▶▶▶ 大腸菌による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 6850

Expresso® T7 SUMO クローニング & 発現システム

BIOSEARCH TECHNOLOGIES

可溶性タンパク質を迅速・簡単に発現！切断活性 SUMO タグ付き

Expresso® T7 SUMO クローニング & 発現システムは PCR 増幅させた遺伝子を迅速かつ簡単にダイレクトクローニングし、可溶性タンパク質を高発現させる画期的なシステムです。

キット中の pETite™ N-His SUMO クローニングベクターが、通常困難であった可溶性タンパク質の発現を可能にしました。SUMO（small ubiquitin-like modifier）は、大腸菌におけるタンパク質の可溶性発現を強める 100 残基ほどのポリペプチドです。

また、1 トランスフォーメーションバイアル中に 2 種類のコンピテントセルラインを含み、高い効率性を持つ HI-Control™ 10G Chemically Competent Cells（20 ページでご紹介）は安定なクローニングを可能にし、HI-Control™ BL21（DE3）Chemically Competent Cells（20 ページでご紹介）が厳密に制御されたタンパク質発現を実現します。これにより従来の T7 プロモーターをベースとした発現システムの問題を解消し、Ni クロマトグラフィーによる N 末端 6 × His-SUMO tag 付加タンパク質の迅速な精製が可能です。

構成内容

- ●Expresso® T7 SUMO Cloning Kit（クローニングベクター、SUMO ポジティブコントロール DNA、シーケンス用プライマーを含む）
- ●SUMO 発現用プロテアーゼ（SUMO コントロールタンパク質含む）
- ●HI-Control™ 10G Chemically Competent Cells（コントロールベクター、回復培地を含む）
- ●HI-Control™ BL21（DE3）Chemically Competent Cells（コントロールベクター、回復培地を含む）

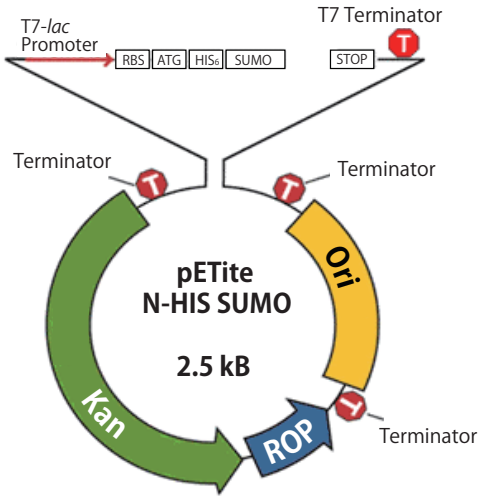


図 1　pETite™ N-HIS SUMO Exprettion Vector

特長

- ●ライゲーション反応なしの 5 秒でクローニング（PCR 反応液をそのまま使用）
- ●高い効率性（90% 以上の組み換え率）
- ●HI-Control™ BL21（DE3）Chemically Competent Cells を用い厳密な発現制御を実現（毒性のあるタンパク質の精製にも最適）
- ●N 末端 6 × His-SUMO tag 付加タンパク質で厳密な発現制御
- ●従来の pET クローニングで行っていたベクターや細胞の調製が不要で、大幅な時間とコストを削減

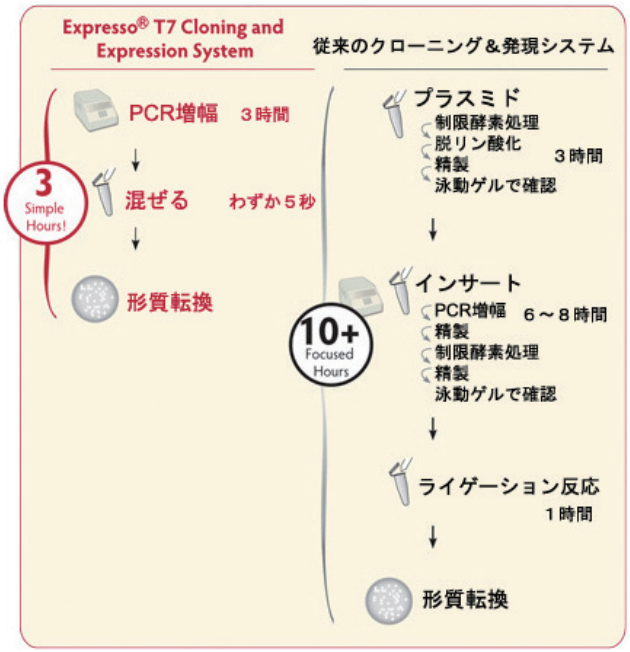


図 2　Expresso® T7 クローニングと従来のクローニング方法の比較

タンパク質大量生産受託
無細胞発現
大腸菌による発現
哺乳類細胞による発現
昆虫細胞による発現
酵母による発現
原生動物による発現
その他

製品データ

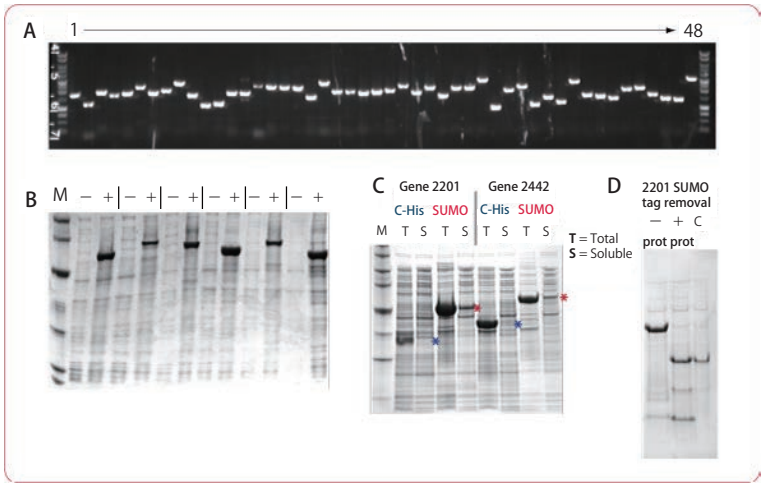


図 3　ラージスケールクローニングおよび発現例
A：48 種類のヒドラーゼ遺伝子の PCR 産物
B：6 種類の異なる遺伝子を pETite™ C-His Vector にクローン化し HI-Control™ BL21（DE3）Chemically Competent Cells に形質転換した誘導前（−）、IPTG 誘導後（＋）のサンプル。
C：SUMO-2201 および 2442 遺伝子産物の可溶化。トータルタンパク質抽出物と可溶性画分を示した。
D：SUMO プロテアーゼで精製 SUMO-2201 から 6 × His-SUMO tag を除去した。
-prot：IMAC 精製後の分解前精製 SUMO-2201 タンパク質
+prot：SUMO プロテアーゼ処理済融合タンパク質
C：SUMO プロテアーゼ処理後、6 × His-SUMO 断片を除去した後の 2201 タンパク質

表　SUMO-tag による可溶性タンパク質生産量の向上

Fibrobacter succinogenes 遺伝子番号	可溶性タンパク質生産量 w/o SUMO tag	可溶性タンパク質生産量 w/SUMO tag
1765	0 mg/L	10 mg/L
1793	0 mg/L	17 mg/L
1994	0 mg/L	17 mg/L
2201	0 mg/L	20 mg/L

4 種類の Fibrobacter succinogenes 遺伝子を pETite™ N-His SUMO にクローン化し、HI-Control™ BL21（DE3）Competent Cells で発現すると、可溶性タンパク質の生産量が増加した。

［Lucigen Corporation.　メーカー略号：LUC］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Expresso® T7 SUMO Cloning and Expression System	49003-1	5 rxns	¥68,000	凍
	49003-2	10 rxns	¥123,000	凍

▶▶▶ 大腸菌による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 7414

Expresso® Rhamnose クローニング & 発現システム

BIOSEARCH TECHNOLOGIES

プラスミド調製、制限酵素&ライゲーション不要の“超”簡単タンパク質発現

Expresso® Rhamnose クローニング&発現システムは、PCR 増幅させた遺伝子を迅速かつ簡単にダイレクトクローニングし、ラムノースによる発現誘導系を用いることで、可溶性タンパク質を高発現させる画期的なシステムです。

ラムノースプロモーター（rhaPBAD）は、異なる濃度のラムノースを用いて誘導を行うことで、タンパク質発現を厳密にコントロールできます。6 × His アフィニティタグは、pRham N-His、pRham C-His、そしてさらに可溶性を高める pRham N-His SUMO の 3 種類をご用意しています。

特長

- ●PCR 反応液をそのまま利用して 5 秒間でクローニングが完了
- ●90% の効率でクローニング
- ●制限酵素、ライゲーション、プラスミド抽出、DNA 精製不要
- ●キット内のコンピテントセルを、クローニングとタンパク質発現両方に使用できるため、ハイスループットの系でも利用しやすい
- ●ラムノースプロモーター（rhaPBAD）はラムノース存在下でのみ濃度依存的に活性化するため、制御しやすい
- ●自己誘導試薬が含まれているので、自動化に最適

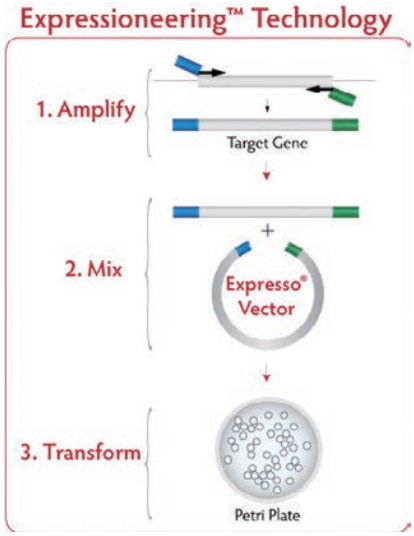


図 1　Expressioneering™ 技術

構成内容

- ●Expresso® Rhamnose Cloning Kit
  （クローニングベクター、ポジティブコントロール DNA、シーケンス用プライマー、Rhamnose 溶液、グルコース溶液を含む）
- ●*E.cloni*® 10G Chemically Competent Cell（コントロールベクター、回復培地を含む）

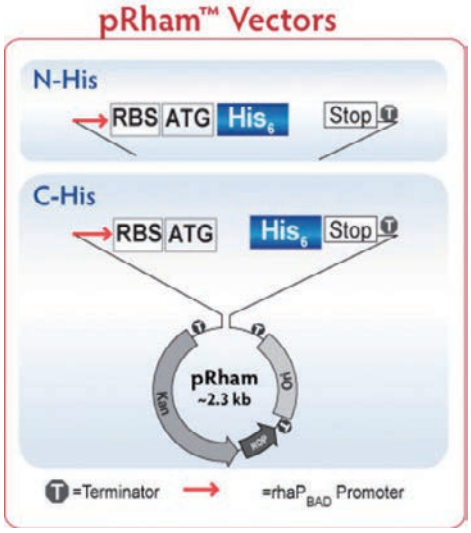


図 2　ベクターマップ

プロトコール

1. クローニング：目的の遺伝子配列の 5', 3' 末端配列を含むプライマーで全長を PCR で増幅させる。pRham Vector と PCR 産物を混ぜてコンピテントセルに加え、形質転換する。
2. コロニースクリーニング：付属のプライマーで directPCR を行い、ポジティブクローンを選択する。陽性サンプルはシーケンスを確認する。
3. タンパク質発現：目的タンパク質により、誘導時間、適温、ラムノースの濃度は異なる。（ラムノースの標準濃度は 0.2%）
4. タンパク質精製：6 × His tag が付加してあるため、これを利用して精製する。

製品データ

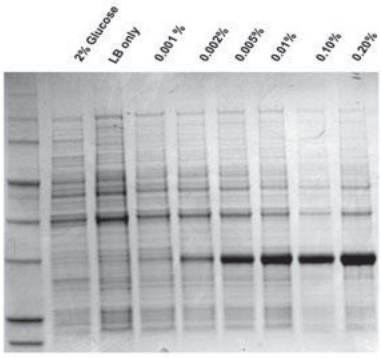


図 3　ラムノース誘導によるリコンビナントタンパク質発現レベルの制御
Blue fluorescent protein（BFP）をコードする遺伝子を含む pRham C-His Kan ベクターを *E. cloni*® 10G cells に形質転換した。LB 培地に、カナマイシン（30 μg/mL）と、ラムノース（0 ～ 0.2% w/v）もしくは 2% グルコースを添加して培養を行った（37℃、オーバーナイト）。その後遠心を行いサンプルを回収し、SDS-PAGE loading buffer を用いて溶解した。クーマシーブルー染色したゲルは、total cellular protein を示した。タンパク質の発現レベルは、0.001 ～ 0.2% の間のラムノース濃度により変化した。

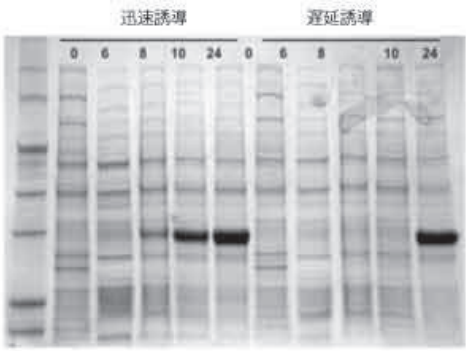


図 4　シングルコロニー由来リコンビナントタンパク質発現の直接自動誘導
BFP 遺伝子を含む pRham C-His Vector を *E. cloni*® 10G cells に形質転換し、カナマイシン（30 μg/mL）を含む YT アガーにプレーティングした。コロニーピッキングし、カナマイシン（30 μg/mL）、ラムノース（0.2% w/v）、0.05%（迅速誘導）か 0.15%（遅延誘導）のいずれかの濃度のグルコースを含む液体 LB 培地に直接植菌した。図に示された培養経過時間後に大腸菌を回収し、SDS-PAGE を行った。その結果、ラムノースと、異なる濃度のグルコースを組み合わせることで、目的のタンパク質発現を自動誘導できた。

タンパク質大量生産受託
無細胞発現
大腸菌による発現
哺乳類細胞による発現
昆虫細胞による発現
酵母による発現
原生動物による発現
その他

[Lucigen Corporation.　メーカー略号：LUC]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Expresso® Rhamnose Cloning and Expression System, N-His	49011-1 49011-2	5 rxns 10 rxns	¥49,000 ¥91,000	凍 凍
Expresso® Rhamnose Cloning and Expression System, C-His	49012-1 49012-2	5 rxns 10 rxns	¥49,000 ¥91,000	凍 凍
Expresso® Rhamnose SUMO Cloning and Expression System	49013-1 49013-2	5 rxns 10 rxns	¥69,000 ¥123,000	凍 凍

▶▶▶ 大腸菌による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 7592

ファージディスプレイ用 コンピテントセル

サンプルあります

BIOSEARCH TECHNOLOGIES

抗体ファージディスプレイやペプチドファージディスプレイライブラリの作製に最適なエレクトロポレーション用コンピテントセル（TG1 / SS320 / ER2738 / MC1061F-）です。

各株の特長

■ TG1 株

アンバーサプレッサー(supE)を持つ、効率的な(≧ 4 × 10^{10} cfu/μg)コンピテントセルです。ファージディスプレイやタンパク質発現にご使用いただけます。

遺伝型：[F' *traD36 proAB lacIqZ* ΔM15] *supE thi-1 Δ(lac-proAB) Δ(mcrB-hsdSM)5(rK - mK -)*

■ SS320 株（MC1061F' 株）

アンバーサプレッサーを持たないコンピテントセルです（≧ 4 × 10^{10} cfu/μg）。F' を持ち、MC1061F' とも呼ばれます。
ファージディスプレイ用で、形質転換効率が非常に優れています。

遺伝型：[F'*proAB+lacIqlacZ*ΔM15 *Tn10 (tetr)*] *hsdR mcrB araD139 Δ(araABC-leu)7679ΔlacX74 galUgalK rpsL thi*

■ ER2738 株

アンバーサプレッサー（glnV）を持つコンピテントセルです（≧ 2 × 10^{10} cfu/μg）。
本菌株は New England Biolab 社 Ph.D.™ Phage Display Kits とのご使用を推奨しています。

遺伝型：[F'*proA+B+ lacIq Δ(lacZ)*M15 *zzf::Tn10 (tetr)*] *fhuA2 glnVΔ(lac-proAB) thi-1Δ(hsdS-mcrB)5*

■ MC1061F- 株

アンバーサプレッサーを持たないコンピテントセルです。一般的なクローニングやファージディスプレイに適しています。遺伝子型は F' エピソームを持たない点以外は、SS320 株と同じで、繊維状ファージの再感染には使用できません。本菌株はサンプルキットには含まれません。

遺伝型：*araD139 Δ(araA-leu)7697 Δ(lac)X74 galK16 galE15(GalS) lambda- e14- mcrA0 relA1 rpsL150 (StrR) spoT1 mcrB1 hsdR2*

製品データ

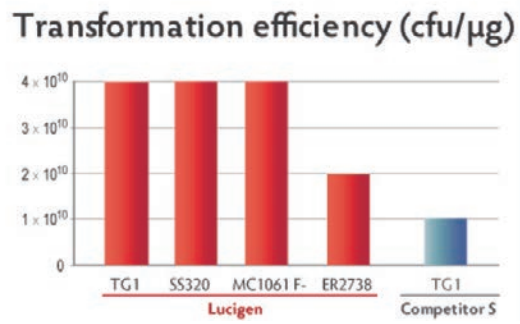


図　Lucigen 社のエレクトロコンピテントセルの形質転換効率を他社品と比較

細胞株	形質転換効率 (cfu/μg pUC DNA)	メチル化 DNA の クローニング	BAC / コスミド クローニング	青 / 白 スクリーニング
TG1 エレクトロコンピテントセル	≧ 4 × 10^{10}	YES	NO	YES　IPTG 誘導必要
SS320（MC1061F'）エレクトロコンピテントセル	≧ 4 × 10^{10}	YES	NO	YES　IPTG 誘導必要
ER2738 エレクトロコンピテントセル	≧ 2 × 10^{10}	YES	NO	YES　IPTG 誘導必要
MC1061F- エレクトロコンピテントセル	≧ 4 × 10^{10}	YES	NO	YES　IPTG 誘導必要

[Lucigen Corporation.　メーカー略号：LUC]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
TG1 Electrocompetent Cells (DUOs)	60502-1 60502-2	12 rxns（DUOs） 24 rxns（DUOs）	¥41,000 ¥71,000	凍 凍
SS320 (MC1061 F') Electrocompetent Cells (DUOs)	60512-1 60512-2	12 rxns（DUOs） 24 rxns（DUOs）	¥43,000 ¥71,000	凍 凍
ER2738 Electrocompetent Cells (DUOs)	60522-1 60522-2	12 rxns（DUOs） 24 rxns（DUOs）	¥38,000 ¥67,000	凍 凍
MC1061 F- Electrocompetent Cells (DUOs)	60514-1 60514-2	12 rxns（DUOs） 24 rxns（DUOs）	¥37,000 ¥65,000	凍 凍

包装形態は、2 rxns/vial となります。例：12 rxns（DUOs）→ 6 vials
TG1、SS320、ER2738 のセット品の無償サンプルがございます。サンプルをご希望の場合は、コスモ・バイオ（欄外参照）までお問い合わせください。

タンパク質大量生産受託
無細胞発現
大腸菌による発現
哺乳類細胞による発現
昆虫細胞による発現
酵母による発現
原生動物による発現
その他

タンパク質大量生産受託
無細胞発現
大腸菌による発現
哺乳類細胞による発現
昆虫細胞による発現
酵母による発現
原生動物による発現
その他

Topics ▸▸▸ 大腸菌による発現

WEB 記事 ID 検索 ▸▸▸ 33361

バクテリオファージ M13 用ヘルパーファージ Hyperphage M13 K07ΔpIII

PROGEN passion for research

パニング効率を改善するためのヘルパーファージ

Hyperphage は、ファージディスプレイにおけるパニング効率を改善するためのヘルパーファージです。ファージライブラリからリコンビナント抗体、リコンビナントタンパク質やペプチドを単離するための効果的なツールです。

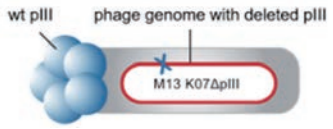
Hyperphage は、pIII 遺伝子に欠損を持ち、pIII を補完できる *E. coli* 株（パッケージング株）を用いて作製されています。作製した Hyperphage は、ゲノムの pIII 遺伝子は欠損していますが、その表面には pIII を持っており、細菌への感染は可能です。この Hyperphage とファージミドライブラリをパッケージング大腸菌に導入して作製したファージは、複数の抗体やペプチドをその表面に提示することができ、パニング効率を劇的に向上できます。

特長

- ●パニング効率の向上（結果としてパニングに使用する抗原量が少なくても利用可能）
- ●親和性の高い結合剤（抗体）と親和性の低い結合剤の同定
- ●抗体ライブラリの場合、pIII と scFv 断片の間にプロテアーゼ切断部位を持つため、プロテアーゼ処理によりファージの溶出が可能

Hyperphage システム

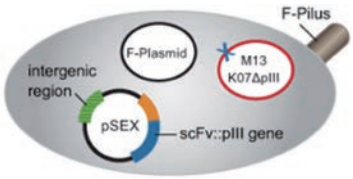
Hyperphage
（感染性 M13 K07ΔpIII ヘルパーファージ）
- 次世代は病原性を持たない
- カナマイシン耐性を有する



pSEX phagemid（抗体遺伝子ライブラリ）
- scFv::pIII 融合タンパク質を産生する
- パッケージングのための intergenic region/ アンピシリン耐性を有する

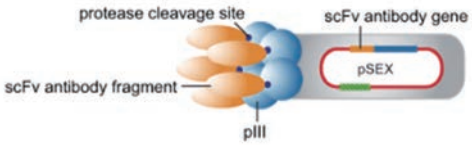
infect ▼ ▼ transfect

***E. coli* [pSEX81]**（ファージミドパッケージング大腸菌）
- F プラスミドを有する
- F 線毛を産生する
- pSEX81 ファージミドを有する



produce phage ▼

ファージ抗体ライブラリ
- scFv 遺伝子を有する
- scFv タンパク質を提示する
- 野生型 pIII タンパク質は持たない
  （scFv と pIII の融合タンパク質は持つ）



[Progen Biotechnik GmbH　メーカー略号：PGN]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Hyperphage M13 K07ΔpIII	PRHYPEXS	1 × 2 mL	¥28,000	㊐
	PRHYPE	5 × 2 mL	¥132,000	㊐

■関連商品　Phagemid Vector pSEX81（ファージミドベクター）

記事 ID 33424

pSEX81 は M13 ファージ（繊維状ファージ）の表面に機能的な一本鎖抗体（single-chain Fraction of variable region antibody、scFv）-pIII 融合タンパク質を発現するためのファージミドベクターで、ファージ抗体ライブラリの作製にご利用いただけます。

[Progen Biotechnik GmbH　メーカー略号：PGN]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
pSEX81 Surface Expression Phagemid Vector	PR3005	5 µg	¥72,000	㊥

Topics ▶▶▶ 大腸菌による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 14138

E. coli 宿主細胞由来タンパク質（HCP）ELISA キット

Enzo

Host Cell Protein を高感度（30 ng/mL）に定量

E. coli 発現系で生産されたバルク製品に混入している宿主細胞由来タンパク質（HCP：Host Cell Protein）を、高感度（30 ng/mL）で定量できる ELISA キットです。
定量が可能な比色法による ELISA キットで、3 時間で測定できます。

FAQあります

特長

- ●*E. coli* 宿主細胞由来タンパク質を高感度（30 ng/mL）で検出（検出範囲：3 ～ 810 ng/mL）
- ●3 時間で測定が可能なハイスループット形式
- ●半定量的なウエスタンブロットとは異なる高い定量性

構成内容

- ●96ウェルクリアプレート（ウサギ抗*E. coli* HCP IgGでコート済み）
- ●*E. coli* タンパク質スタンダード
- ●5X 希釈バッファー
- ●10X PBS-T
- ●レポーティング抗体（ビオチン標識ウサギ抗 *E. coli* 細胞タンパク質ポリクローナル抗体）
- ●ストレプトアビジン標識 HRP
- ●TMB 基質
- ●停止溶液
- ●プレートシーラー

[Enzo Life Sciences, Inc.　メーカー略号：ENZ]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
E. coli Host Cell Protein ELISA Kit, *Escherichia coli*	ENZ-KIT127-0001	96 wells	¥124,000	㊐

FAQ

【01】*E.coli* 宿主細胞タンパク質スタンダードはどのようにして製造されたものですか？

生物製剤の製造に使用されているほとんどの *E.coli* 株は K12 株由来です。*E.coli* 宿主細胞タンパク質 ELISA は 2 種の *E.coli* K12 株から抽出した水溶性タンパク質を使って製造しています。Enzo Life Sciences 社で作製した 2 種の抗体を用いた交差性カバー試験では、80% 以上のカバー率でした。言い換えると、株 1 の抗体で株 2 の宿主細胞タンパク質の 80% が検出でき、その逆も同様でした。*E.coli* 宿主細胞タンパク質の免疫原性が高いことから、*E.coli* HCP ELISA がほとんどの *E.coli* 株を網羅できると見込んでいます。

【02】*E.coli* や CHO 宿主細胞タンパク質に対するポリクローナル抗体は精製されていますか？またその精製方法を教えてください。

これらの抗体は GE Healthcare 社の MabSelect™（Protein A affinity column）を用いて精製しています。

【03】*E.coli* 宿主細胞由来タンパク質（HCP）ELISA キット（品番：ENZ-KIT-127-0001）と CHO 宿主細胞由来タンパク質（HCP）ELISA キット（品番：ENZ-KIT-128-0001）に含まれる抗体は、なぜ HCP アフィニティカラムではなくプロテイン A アフィニティカラムを使用しているのですか？

一番の理由は、商品の一貫性のためです。プロテイン A アフィニティカラムの歴史は古く、信頼性も十分あり、多くの企業で抗体精製用として使用されています。一方で、HCP アフィニティカラムは何度かカスタム構築され、あまり安定性は高くはありません。時間が経つと、HCP アフィニティカラムは変質し、抗体の品質が悪くなります。HCP アフィニティカラムよりプロテイン A アフィニティカラムを選ぶことは、感度を犠牲にすることになります。しかし、FDA では HCP レベル 1 ～ 100 ppm の生物製剤であれば容認できるとしています。キットの感度限度は 2.5 ppm（検量線の 10 ng/mL データポイントをもとに、4 mg/mL の薬物基質を添加した場合）です。この値は HCP 分析に対する規制上の要求事項を満たしています。

Topics ▶▶▶ 大腸菌による発現

E. coli 宿主細胞タンパク質（HCP）抗体、コントロール製品

ROCKLAND

[Rockland Immunochemicals, Inc.　メーカー略号：RKL]

品名	免疫動物	種由来	適用	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Anti High Molecular Weight Proteins Host Cell Protein (HCP)	Rabbit	*E. coli*	ELISA, WB	200-401-J05S 200-401-J05	25 µL（1.38 mg/mL） 100 µg（1.38 mg/mL）	¥22,000 ¥85,000	㊥ ㊥
Anti Low Molecular Weight Proteins Host Cell Protein (HCP)	Rabbit	*E. coli*	ELISA, WB	200-401-J06S 200-401-J06	25 µL（1.29 mg/mL） 100 µg（1.29 mg/mL）	¥22,000 ¥85,000	㊥ ㊥
Anti Host Cell Protein (HCP)	Rabbit	*E. coli*	ELISA, WB	100-401-J07	100 µL（77.5 mg/mL）	¥92,000	㊥
Anti Host Cell Protein Combined (HCP)	Rabbit	*E. coli*	ELISA, WB	200-401-M61S 200-401-M61	25 µL（0.82 mg/mL） 100 µg（0.82 mg/mL）	¥22,000 ¥87,000	㊥ ㊥
Anti Host Cell Protein Combined (HCP), Biotin	Rabbit	*E. coli*	ELISA, WB	200-406-M61	100 µg（1.0 mg/mL）	¥92,000	㊥
Host Cell Protein Control Protein (HCP)	—	Recombinant	ELISA, WB	000-001-J08	50 µg（2 mg/mL）	¥28,000	㊥

タンパク質大量生産受託
無細胞発現
大腸菌による発現
哺乳類細胞による発現
昆虫細胞による発現
酵母による発現
原生動物による発現
その他

Topics ▶▶▶ 大腸菌による発現

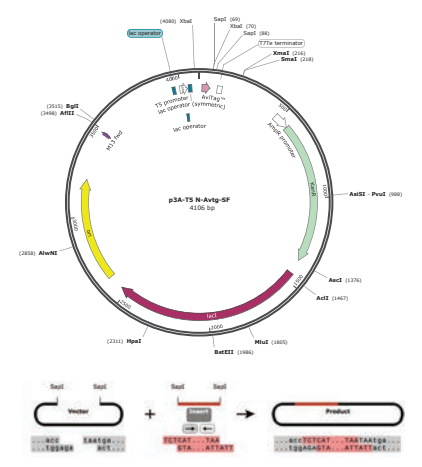
WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 2630

AviTag™ ビオチンリガーゼ発現システム

目的タンパク質のビオチン標識に

Avidity 社では、大腸菌発現系でビオチン化タンパク質を作製するために必要な各種試薬を取り揃えています。

特許取得済の AviTag™ を持つ目的タンパク質を発現させた後、ビオチンリガーゼ（BirA）を用いて AviTag™ 部位にビオチンを転移させることでビオチン標識を行うことが可能です。



■Avidity ATUM AviTag™ ベクター

C 末端または N 末端に AviTag™ 付きのタンパク質の発現やクローニングに用いることが可能な IPTG 誘導性（T5 プロモーター）またはラムノース誘導性（Rha プロモーター）ベクターです。AviTag™ の他にベクター毎に異なるリンカーを含んでおり、ビオチン化に影響する立体障害を最小限に抑えるよう設計されています。

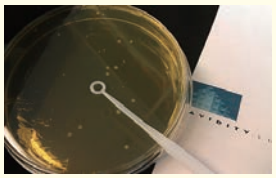
[Avidity.LLC　メーカー略号：AVI]

品名	品番
p3A-T5-N-Avtg-SF vector	T5NSF
p3A-T5-N-Avtg-RE vector	T5NRE
p3A-T5-C-Avtg-SF vector	T5CSF
p3A-T5-C-Avtg-RE vector	T5CRE

品名	品番
p3A-Rha-N-Avtg-SF vector	RhaNSF
p3A-Rha-N-Avtg-RE vector	RhaNRE
p3A-Rha-C-Avtg-SF vector	RhaCSF
p3A-Rha-C-Avtg-RE vector	RhaCRE

包装、希望販売価格、貯蔵温度は全て 200 ng、¥79,000、−70℃です。クローニングには、ATUM 社 Electra™ Cloning Reagents Kit（品番：EKT-03）をご使用ください。

■BirA 発現大腸菌株およびコンピテントセル（*in vivo* ビオチン標識用）



[Avidity.LLC　メーカー略号：AVI]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
E.coli BL21 strain for efficient *in vivo* biotinylation	AVB101	1 vial（0.5 mL）	¥95,000	凍
Chemically competent cell of *E.coli* BL21 Strain for *in vivo* biotinylation	CVB101	10 vials（10 × 100 µL）	¥66,000	凍
Electro Competent *E. coli* BL21 strain for *in vivo* biotinylation	EVB101	10 vials（10 × 50 µL）	¥66,000	凍
Chemically competent cells from *E. coli* BL21DE3 strain	CVB-T7 POL	10 vials（10 × 100 µL）	¥68,000	凍
E. coli K12 Strain, Glycerol Stock	AVB100	1 vial（0.5 mL）	¥95,000	凍
Electro Competent *E. coli* K12 strain for *in vivo* biotinylation	EVB100	10 vials（10 × 50 µL）	¥68,000	凍

■ビオチンリガーゼ（BirA）

AviTag™ ペプチド配列などを持つビオチン受容体タンパク質へのビオチン標識が可能です。ビオチンリガーゼは、天然基質（BCCP）と比べて、2 倍の反応速度で AviTag™ 配列を効率的にビオチン化することが可能なため、AviTag™ を持つタンパク質のビオチン標識に最適です。

溶液タイプまたは凍結乾燥品タイプのビオチンリガーゼと、各タイプに最適化された試薬をセットにしてご提供します。

[Avidity.LLC　メーカー略号：AVI]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
BirA biotin-protein ligase standard reaction kit	BIRA500	2 × 20 µg	¥105,000	凍
BirA biotin-protein ligase standard reaction kit	BIRA	10 × 30 µg	¥370,000	凍 凍
BirA biotin-protein ligase standard reaction kit (lyophilized)	BIRA500-RT	2 × 20 µg	¥105,000	冷

■AviTag™ の関連商品

[Avidity.LLC　メーカー略号：AVI]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Biotin Solution, *Escherichia coli*	BIO200	1.5 mL	¥16,000	凍
Positive Control Plasmid	BIP300	2 µg	¥57,000	凍
Positive Control Protein Substrate Kit	BIS300	1 kit	¥57,000	凍
Anti AviTag™ (C-terminus) (Mouse)	ABC	100 µL	¥76,000	凍

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 36793

CHO 細胞株 & 推奨培地

CHO（Chinese hamster ovary）細胞の K1 サブクローン（CHO-K1）です。タンパク質発現に最適です。浮遊および接着状態の両方で増殖します。

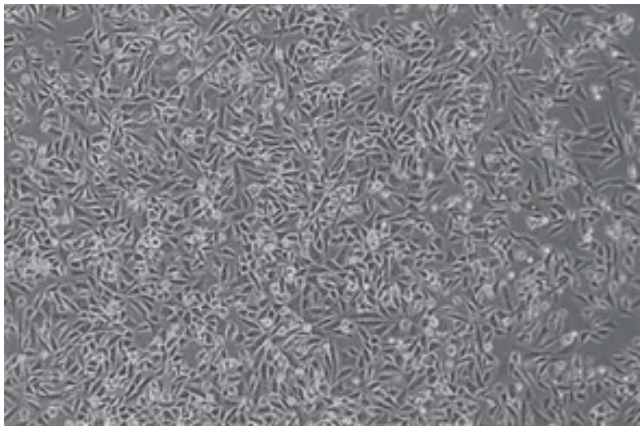


図 1　CHO 細胞の形態（位相差顕微鏡下）

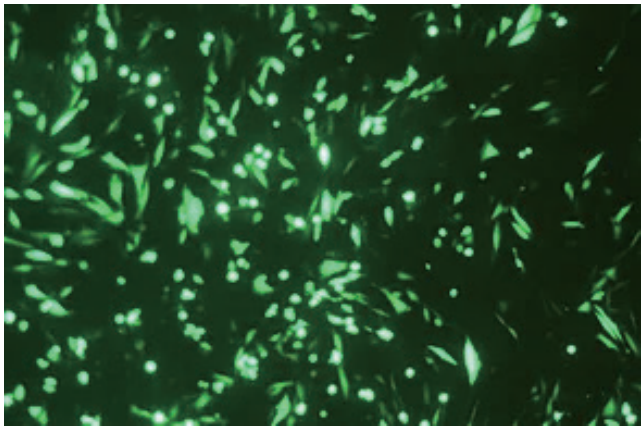


図 2　CHO 細胞のタンパク質生産（GFP）

■CHO 細胞株

［Cellular Engineering Technologies, Inc.　メーカー略号：CET］

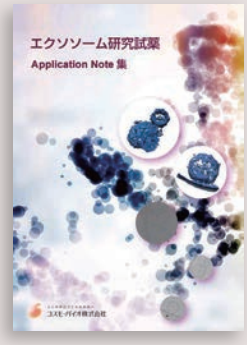
品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
CHO Cells	CET.CHO.CELL.K1	1 vial（500,000 cells）	¥98,000	液窒

■推奨培地

［Cellular Engineering Technologies, Inc.　メーカー略号：CET］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Chinese Hamster Ovary (CHO) Cell Growth/Expansion Media	CET.CHO.MEDIA-450	450 mL	¥20,000	冷

神経研究ハンドブック



エクソソーム研究用試薬
アプリケーションノート集

グライコバイオロジー
ハンドブック第 3 版

RNAi ハンドブック
第 3 版

ゲノム編集ハンドブック
第 3 版

好評配布中！

コスモ・バイオのハンドブック

ウェブサイトからカタログ送付依頼【無料】ができます！
www.cosmobio.co.jp

タンパク質大量生産受託
無細胞発現
大腸菌による発現
哺乳類細胞による発現
昆虫細胞による発現
酵母による発現
原生動物による発現
その他

Topics ▶▶▶ 哺乳類細胞による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 17742

CELLiST™ シリーズ ～CHO 細胞向けの基礎培地＆フィード培地～

AJINOMOTO

幅広い CHO 細胞に適用可能な培地

CELLiST™ シリーズ培地は、現在バイオ医薬品製造において最も使用されている CHO 細胞向けの基礎培地およびフィード培地です。独自の組成開発手法と最先端の分析ノウハウにより、幅広い CHO 細胞で高い培養性能を発揮するベストな組成バランスを実現しました。また、既知成分組成・動物由来成分不含のため、安心して使用でき、スピーディかつ効率的な細胞培養プロセス開発を可能にします。

特長

- ●細胞増殖・タンパク質生産双方に高性能発揮
- ●プロセススケールアップにおけるロバストな培養性能
- ●幅広い CHO 細胞に適応
- ●プラットフォーム培地として柔軟に使用可能
- ●高溶解技術による 1 液型の高濃度フィード培地
- ●cGMP 工場にて製造
- ●商業生産スケールへ素早く対応可能
- ●厳正な原料品質管理とフル・トレーサビリティ

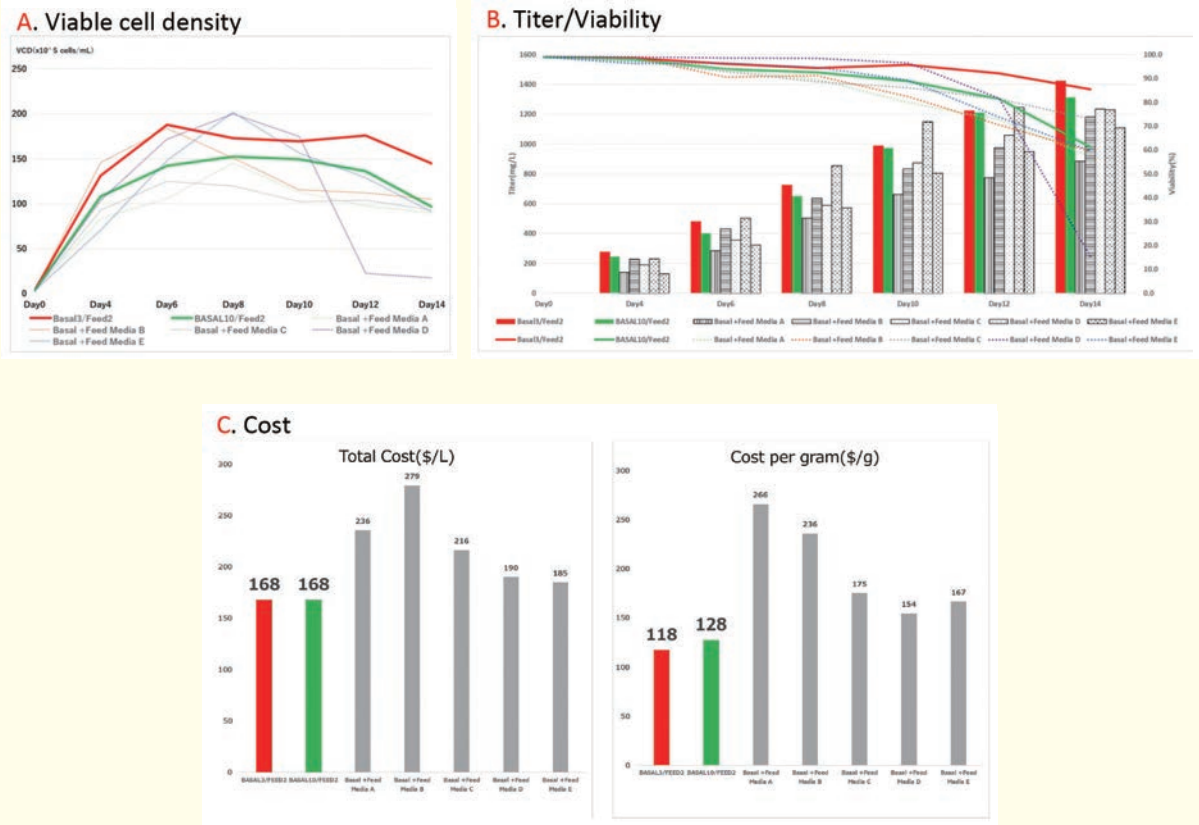


図 1　CHO-S 細胞におけるフェドバッチ培養の性能比較（A、B）と培地コスト比較（C）
CHO-S 細胞において、味の素ヘルシーサプライ社品（BASAL3, FEED2/BASAL10, FEED2）と他社培地品でフェドバッチ培養を実施した。
その結果、味の素ヘルシーサプライ社品は培養初期の立ち上がりが良く、培養後期にかけて安定した細胞数を保つことができ（A）、高い生存率と安定した細胞増殖を通じた目的抗体の取得が可能となった（B）。
さらに、（A）と（B）の結果と培地価格を踏まえ、培養コストを最も抑えることができた（C）。

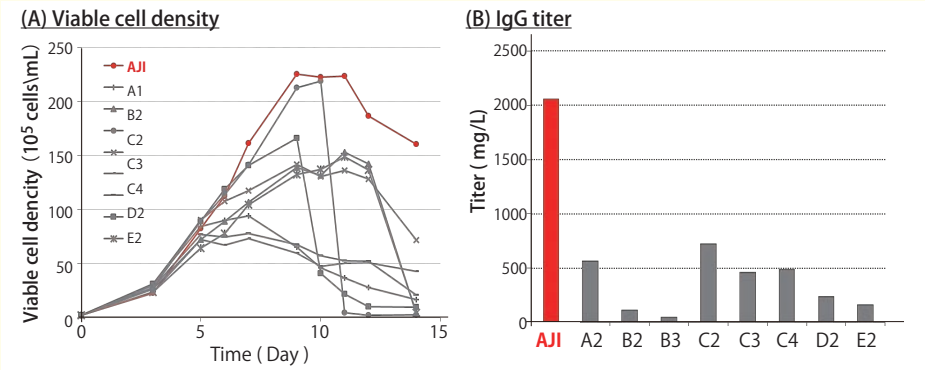


図 2　CHO DG44 細胞におけるフェドバッチ培養での性能比較
CHO DG44 細胞において、味の素ヘルシーサプライ社品（BASAL3, FEED2）と他社培地品でフェドバッチ培養を実施した。
本商品は CELLiST™ Feed media を培養 4・6・8・10・12 日目に 5% 添加、他社品については各製品インストラクション記載の使用法に従って添加したところ、本商品は最も高い抗体生産を示した。

■CELLiST™ 基礎培地

[味の素ヘルシーサプライ株式会社　メーカー略号：AJI]

品名／詳細	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
CELLiST™ Basal media BASAL3 ●CHO-S、DG44、K1、DXB11、GS など幅広い CHO 細胞の培養に適した培地	BASAL3	1 L 5 × 1 L 50 L	¥12,000 ¥50,000 ご照会	冷 冷 冷
CELLiST™ Basal media BASAL10 ●CHO-S 細胞の培養に最適な培地	BASAL10	1 L 5 × 1 L 50 L	¥12,000 ¥50,000 ご照会	冷 冷 冷

■CELLiST™ フィード培地

[味の素ヘルシーサプライ株式会社　メーカー略号：AJI]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
CELLiST™ Feed media	FEED2	0.2 L 5 × 0.2 L 10 L	¥11,000 ¥45,000 ご照会	冷 冷 冷

Topics ▸▸▸ 哺乳類細胞による発現

CHO 細胞抗体

proteintech® Antibodies | ELISA kits | Proteins

[Proteintech Group, Inc.　メーカー略号：PGI]

品名	免疫動物	交差種	適用	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Anti CHO cells	Rabbit（poly）	Hamster	WB、ELISA	27803-1-AP	150 µL	¥64,000	凍

Topics ▸▸▸ 哺乳類細胞による発現

WEB 記事 ID 検索 ▸▸▸ 14130

CHO 宿主細胞由来タンパク質（HCP）ELISA キット

Enzo®

Host Cell Protein を高感度（10 ng/mL）に検出

CHO（Chinese Hamster Ovary）発現系で生産されたバルク製品に混入している宿主細胞由来タンパク質（HCP：Host Cell Protein）を、高感度（10 ng/mL）で定量できる ELISA キットです。定量が可能な比色法による ELISA キットで、3 時間で測定できます。

特長

- ●CHO 宿主細胞由来タンパク質を高感度（10 ng/mL）で検出（検出範囲：3 ～ 810 ng/mL）
- ●3 時間で測定が可能なハイスループット形式
- ●半定量的なウエスタンブロットとは異なる高い定量性

構成内容

- ●96 ウェルプレート（ウサギ抗 CHO HCP IgG でコート済み）
- ●CHO タンパク質スタンダード
- ●5X 希釈バッファー
- ●10X PBS-T
- ●レポーティング抗体（ビオチン標識ウサギ抗 CHO 細胞タンパク質ポリクローナル抗体）
- ●HRP 標識ストレプトアビジン
- ●TMB 基質
- ●停止溶液
- ●プレートシーラー

FAQ

【01】CHO 宿主細胞由来タンパク質のスタンダードはどのように製造されていますか？

CHO 宿主細胞由来タンパク質のスタンダードは複数の CHO K1 細胞株を組成既知の培地で浮遊培養し、調製しています。馴化培地から宿主細胞由来タンパク質を回収し、濃縮後、スタンダードとして使用しています。また抗 CHO 宿主細胞由来タンパク質抗体作成時の抗原として使用しています。

【02】*E.coli* や CHO 宿主細胞由来タンパク質に対するポリクローナル抗体は精製されていますか。またその精製方法を教えてください。

これらの抗体は GE Healthcare 社の MabSelect™（Protein A affinity column）を用いて精製しています。

【03】キットに含まれる抗体は、なぜ HCP アフィニティカラムではなくプロテイン A アフィニティカラムを使用しているのですか。

一番の理由は、商品の一貫性のためです。プロテイン A アフィニティカラムの歴史は古く、信頼性も十分あり、多くの巨大バイオ技術企業や製薬会社に抗体精製用として使用されています。一方で、HCP アフィニティカラムは何度かカスタム構築され、あまり安定性は高くありません。時間が経つと、HCP アフィニティカラムは変質し、抗体の品質が悪くなります。HCP アフィニティカラムよりプロテイン A アフィニティカラムを選ぶことは、感度を犠牲にすることになります。しかし、FDA では HCP レベル 1 ～ 100 ppm の生物製剤であれば容認できるとしています。キットの感度限度は 2.5 ppm（検量線の 10 ng/mL データポイントをもとに、4 mg/mL の薬物基質を添加した場合）です。この値は HCP 分析に対する規制上の要求事項を満たしています。

他社製品との比較

■カバレッジ

Enzo 社の CHO HCP 抗体と他社製品を同一条件下で、2D ウエスタンブロット解析を行った結果、Enzo 社抗体のカバレッジは他社製品より 25% 高い数値を示しました（図 1）。

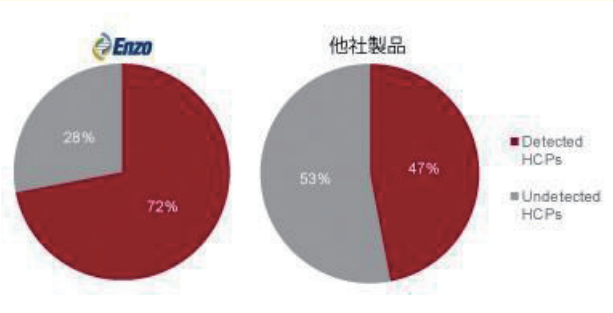


図 1

■感度

Enzo 社の CHO HCP 抗体と他社製品について 3 種類の DS（CHO 発現系によって産生された抗体）に存在する HCP 量を比較した結果、Enzo 社抗体は 2 ～ 8 倍の感度を示しました（図 2）。

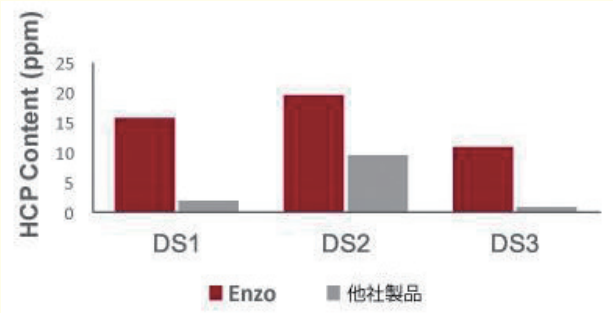


図 2

■アッセイ内バリデーション

Enzo 社の CHO HCP 抗体は他社製品と比較した結果、アッセイ間差はごくわずかでした（図 3）。

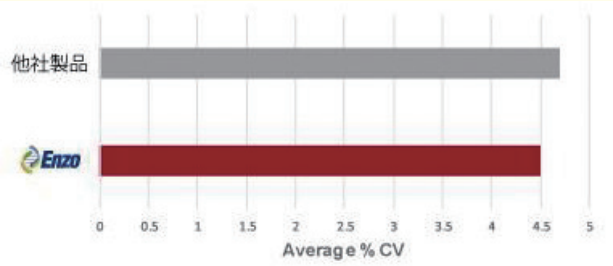


図 3

■ロット間差が最小

90, 30, 10 ng/mL の 3 種類のロットを用いてロット間の変動を評価した。Enzo 社抗体のロット間差はごくわずかでした（表）。

表

標的 (ng/mL)	Mean OD Values			Overall Mean	Standard Deviation	% CV
	Lot 1	Lot 2	Lot 3			
90	2.22	2.22	2.44	2.29	0.12	5.24
30	1.1	1.13	1.17	1.1	0.06	5.45
10	0.53	0.49	0.61	0.55	0.05	9.09

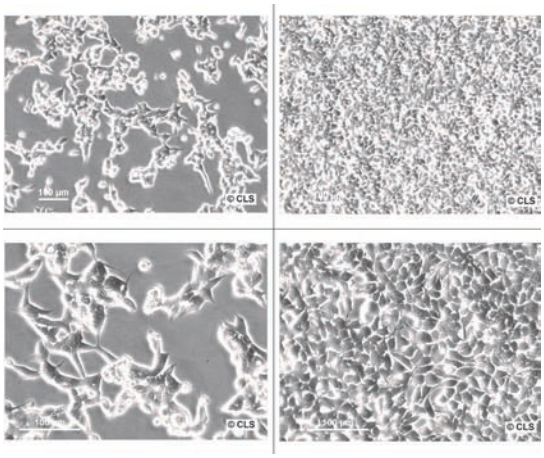
[Enzo Life Sciences, Inc.　メーカー略号：ENZ]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
CHO Host Cell Protein ELISA Kit	ENZ-KIT128-0001	96 wells	¥124,000	冷

▶▶▶ 哺乳類細胞による発現

HEK293 細胞

HEK293 細胞（ヒト胎児腎細胞）です。タンパク質発現や細胞機能解析にご使用いただけます。



本商品のご購入に際して、Material Transfer Agreement（MTA）の締結が必要です。コスモ・バイオ取扱代理店へご注文いただく際に一緒にお送りくださいますよう、お願いいたします。

コスモ・バイオのホームページ上部「サポート情報」＞「確認書・同意書」から書類をダウンロードいただけます。

[Cell Lines Service　メーカー略号：CLI]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
HEK293 (Human embryonic kidney cell line)	300192	1 vial	ご照会	液窒
HEK293 (Human embryonic kidney cell line) for Academic user	300192-ACADEMIC	1 vial	¥186,000	液窒

Topics ▶▶▶ 哺乳類細胞による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 36667

HEK293T 宿主細胞由来タンパク質（HCP）ELISA キット

Enzo

Host Cell Protein のコンタミネーションを高感度に検出

HEK293T 発現系で生産されたバルク製品に混入している宿主細胞由来タンパク質（HCP：Host Cell Protein）を、高感度（37 ng/mL）で定量できる ELISA キットです。定量が可能な比色法による ELISA キットで、6 時間で測定できます。

特長

- ●アッセイ内のばらつきが少なく、効率的なテストが可能（測定範囲：37 ～ 27,000 ng/mL）
- ●6 時間で測定が可能なハイスループット形式
- ●半定量的なウエスタンブロットとは異なる高い定量性

構成内容

- ●96 ウェルクリアプレート（ウサギ抗 HEK293T HCP IgG でコート済み）
- ●HEK293T タンパク質スタンダード
- ●1X 希釈バッファー
- ●10X PBS-T
- ●レポーティング抗体（ビオチン標識ウサギ抗 HEK293T HCP ポリクローナル抗体）
- ●HRP 標識ストレプトアビジン
- ●TMB 基質
- ●停止溶液
- ●プレートシーラー

[Enzo Life Sciences, Inc.　メーカー略号：ENZ]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
HEK293T Host Cell Protein ELISA Kit	ENZ-KIT162-0001	96 wells	¥121,000	冷

Topics ▶▶▶ 哺乳類細胞による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 38218

HEK293 細胞抗体と HEK293T 細胞抗体

proteintech Antibodies | ELISA kits | Proteins

HEK 293 cells タンパク質を検出するウサギポリクローナル抗体です。

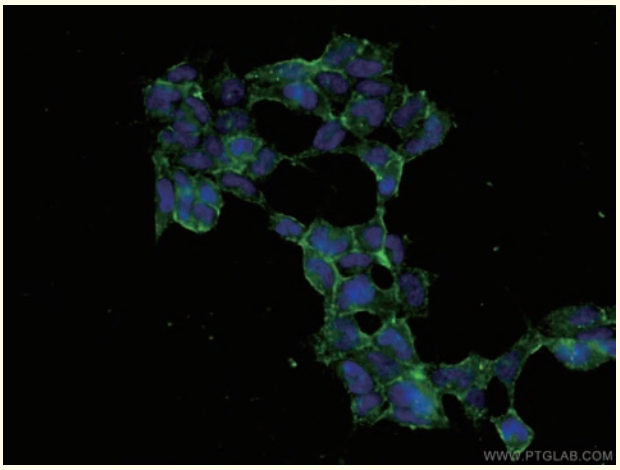


図　HEK293 細胞抗体（希釈率 1：1,000）と Alexa Fluor 488-conjugated AffiniPure Goat Anti-Rabbit IgG（H+L）を用いて、4% パラフィンで固定した HEK293 細胞を免疫蛍光解析した結果。

表 1　HEK293 細胞の詳細

交差種	ヒト
アプリケーション	免疫蛍光染色、ELISA、WB
抗原	ペプチド
アイソタイプ	IgG
精製方法	Protein A purification

表 2　HEK293T 細胞の詳細

交差種	ヒト
アプリケーション	ELISA
抗原	ペプチド
アイソタイプ	IgG
精製方法	Protein A purification

Proteintech 社抗体の特長

- ●全てオリジナル商品：自社ラボで製造、検証済み（購入後 1 年間の交換保証付き）
- ●数多くの評判：国内・海外における累計 50,000 報以上の論文使用実績（2021 年 7 月現在）
- ●迅速な納期：約 12,000 品目を国内在庫

■HEK293 細胞抗体

[Proteintech Group, Inc.　メーカー略号：PGI]

品名	免疫動物	適用	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Anti HEK 293 cells, Trial Size: 20 µL	Rabbit（poly）	IF（免疫蛍光染色）、ELISA、WB	27347-1-AP	20 µL	¥23,000	凍
Anti HEK 293 cells	Rabbit（poly）	IF（免疫蛍光染色）、ELISA、WB	27347-1-AP	150 µL	¥64,000	凍

■HEK293T 細胞抗体

[Proteintech Group, Inc.　メーカー略号：PGI]

品名	免疫動物	適用	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Anti HEK 293T cells, Trial Size: 20 µL	Rabbit（poly）	ELISA	27555-1-AP	20 µL	¥23,000	凍
Anti HEK 293T cells	Rabbit（poly）	ELISA	27555-1-AP	150 µL	¥64,000	凍

タンパク質大量生産受託
無細胞発現
大腸菌による発現
哺乳類細胞による発現
昆虫細胞による発現
酵母による発現
原生動物による発現
その他

Topics ▶▶▶ 哺乳類細胞による発現

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 8575

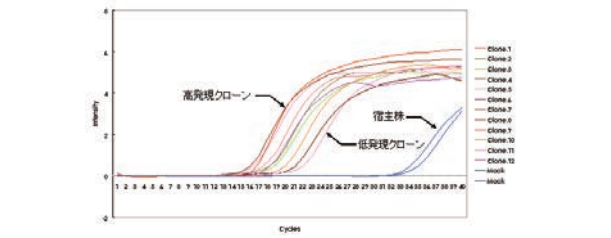
TG-Sure Expression（IR/MAR）タンパク質高発現試薬

Trans Genic Inc.

発現ベクターと共に宿主細胞株にトランスフェクション

哺乳動物細胞を宿主としたタンパク質発現系は、適切な立体構造や翻訳後修飾を必要とするようなタンパク質の生産の目的で利用されています。しかしながら、他の発現系と比べて、哺乳動物発現系の生産性は決して高いものではありません。そのため高いタンパク質の生産性が要求される場合では、遺伝子増幅法による発現細胞の構築が行われています。遺伝子増幅法で構築した発現細胞では、多コピーに増幅された目的遺伝子が染色体上に導入されます。

IR/MAR 遺伝子増幅法は、がん細胞株で見られる遺伝子増幅メカニズムの研究過程において発見された新しい原理に基づく遺伝子増幅技術です。哺乳動物複製開始領域（IR）と核マトリックス結合領域（MAR）を持つプラスミドは、細胞内で効率よく遺伝子増幅を起こします。従って、本品（IR/MAR 配列を持つ DNA）と共に発現ベクターを適当な宿主細胞株にトランスフェクションすることにより、遺伝子増幅された発現株を作製することができます。トランスフェクション後は通常の薬剤選抜により、安定発現株を取得することができます。



遺伝子増幅クローンのmRNA経時発現量のスクリーニング
導入遺伝子のmRNA発現をRealTime-PCRで定量したときの増幅曲線を示した。

内容	7.5 kbp DNA フラグメント
容量	10 µg DNA/vial, 20 µL TE (sterilized)
保管方法	−20℃以下 溶解後はヌクレアーゼの混入等による分解にご注意ください。

操作方法

1. 発現ベクターの準備

目的タンパク質の発現ベクターをご準備ください。発現ベクターには任意の市販製品をお使いいただけます。発現ベクターは適当な制限酵素サイトで直鎖化したのち精製してください。

2. トランスフェクション

トランスフェクション前日に、任意の宿主細胞を 6 ウェルプレートに播種してください。市販のリポフェクション試薬のプロトコールに従い、直鎖化した発現ベクター 1.0 ～ 2.0 mg と本 DNA 試薬 1.0 ～ 2.0 mg を混和し、70 ～ 80% コンフルエントの宿主細胞に共導入してください。宿主細胞の播種密度、トランスフェクションの方法や効率等については、別途ご検討の上、至適化を行ってください。

対照として、本 DNA 試薬を含まないトランスフェクションを行うことにより、IR/MAR 遺伝子増幅法の効果を判定することができます。

3. 薬剤選抜

トランスフェクションの翌日～翌々日に 10 cm Dish プレートに継代し、発現ベクターの選択マーカーとブラストサイジン S によるダブルセレクションを開始してください。各薬剤の有効濃度は、あらかじめ宿主細胞ごとに決定しておいてください。

選抜開始の数日後から、ブラストサイジン S 濃度を 5 ～ 20 倍程度高濃度にすることにより、より多コピーに遺伝子増幅したクローンを選抜することができます。通常、1 ヵ月ほどの薬剤選抜により、安定発現株を取得することができます。

4. 高発現株の単離

得られた安定発現株は、限界希釈などの方法でクローニングすることにより、高発現株（モノクローン）を単離することができます。

高発現株のスクリーニングは、目的遺伝子のコピー数や mRNA 発現量を定量 PCR で測定する等の方法で行うことができます。

実施例

1. 発現細胞株の構築例

6 ウェルプレートに播種しサブコンフルエントに生育した HEK293 細胞に、直鎖化した発現ベクター（Neomycin 耐性）と本試薬を 2.0 mg ずつ混和した DNA 液を調製しトランスフェクションを行った。トランスフェクションには、市販のリポフェクション試薬を用いた。トランスフェクションの翌日にウェルから細胞を回収し、10 cm Dish に播種した。培地は Neomycin（0.5 mg/mL）と Blasticidin S（10 mg/mL）を含む DMEM+10%FBS を用いた。およそ 4 ～ 7 日ごとに継代を繰り返し、安定発現株を取得した。なお、2 回目の継代からは、Blasticidin S の添加濃度を 100 mg/mL とした。

2. RealTime-PCR による高発現株のスクリーニング例

CHO 株を宿主として作製した安定発現株から、限界希釈法により 12 クローンを単離した。各クローンの細胞ペレットから mRNA を回収し、その相対発現量を RealTime-PCR により定量した。内部標準には、マウス b-Actin 遺伝子を用いた。各クローンについて、比較 Ct 法で導入遺伝子の相対発現量を算出したところ、低発現クローンの 235 倍の発現量を示す高発現クローンを取得することができた。

ライセンス条項

本製品並びに IR/MAR 遺伝子増幅法技術は、特許 3755028 号、特許 3882042 号、特願 2011-019563 により保護されています。

本製品は、ご購入者の自施設における研究目的のみにご使用いただけます。

本製品の複製、または第三者への譲渡・配布・再販はご遠慮ください。

本製品のご購入の際には、別途、ライセンス確認同意書のご提出をお願いしております。つきましては、別紙の内容をご確認いただき必要事項をご記入の上、コスモ・バイオ販売代理店へご注文いただく際に一緒にお送りくださいますようお願いいたします。書類は本商品を紹介するコスモ・バイオの Web からダウンロードいただけます。

記事 ID 8575 検索

［株式会社トランスジェニック　メーカー略号：KAL］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
TG-Sure Expression（IR/MAR）タンパク質高発現試薬	IM-01	10 µg	¥112,500	㊄

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 8052

バキュロウイルス発現キット *baculo*COMPLETE™

*flash*BAC™ 技術を用いたバキュロウイルス発現系タンパク質発現用キット

組み換えウイルス精製ステップが不要のバキュロウイルス発現用のキットです。*flash*BAC™ 技術を用いた *flash*BAC ULTRA™ DNA と共に、バキュロウイルスタンパク質発現に必要となる試薬や細胞をセットになっています。各コンポーネントは、優れた組み換えウイルス力価とタンパク質の収量が得られるよう、本キット用に最適化されています。

構成内容

- ●*flash*BAC ULTRA™ DNA
- ●トランスファーベクターコントロール DNA
- ●*baculo*FECTIN™ トランスフェクション試薬
- ●*baculo*GROW™ 昆虫細胞用培地
- ●Sf9 細胞

トランスファーベクターは本キットに含まれておりません。
お客様の実験系に適したものを別途ご用意ください。

*flash*BAC™ 技術による発現システムの原理

*flash*BAC™ は、組み換えウイルス精製ステップが不要のバキュロウイルスベースのリコンビナントタンパク質の過剰発現を簡単かつ迅速に行うことができる画期的なシステムです。*flash*BAC™ のポリヘドリン領域には、昆虫細胞内でウイルスが増殖するのに必要な遺伝子（ORF1629）が一部欠損したものと、BAC（Bacterial Artificial Chromosome）が含まれます。*flash*BAC™ DNA と、目的遺伝子を含むトランスファーベクターが相同組換えを起すと、同時に昆虫細胞内で増殖可能な遺伝子の欠損部位が正常部位と組み換わり、機能が回復します（図）。非組換えウイルスは昆虫細胞内での増殖は不可能ですが、組換えウイルスは増殖が可能であるため、プラークアッセイや精製等のスクリーニングを必要とせずに直接培養上清を昆虫細胞に使用することができます。

また、一般的にバキュロウイルスは、感染後期に宿主のクチクラを破壊し組織の液状化を引き起こす酵素キチナーゼ（chitinase：*chiA*）を含みます。キチナーゼは、感染昆虫細胞内で小胞体と結合し、タンパク質分泌経路を完全にふさいでしまいます。*flash*BAC™ システムでは、*chiA* が欠損しているので、分泌性タンパク質および膜タンパク質の発現システムもまた大幅に改善されました。

本システムは、昆虫細胞内のポリヘドリン領域との相同組換えを利用した多くのベクター（例：pBACPAK8/9, pAcUW31, pBacPAK-His1/2/3 など）と互換性があります。

特長

- ●精製ステップ不要のワンステップ発現系
- ●ウイルスストックが 7 ～ 10 日で得られます
- ●プラークアッセイ不要
- ●ハイスループットに対応
- ●組換え効率 100%

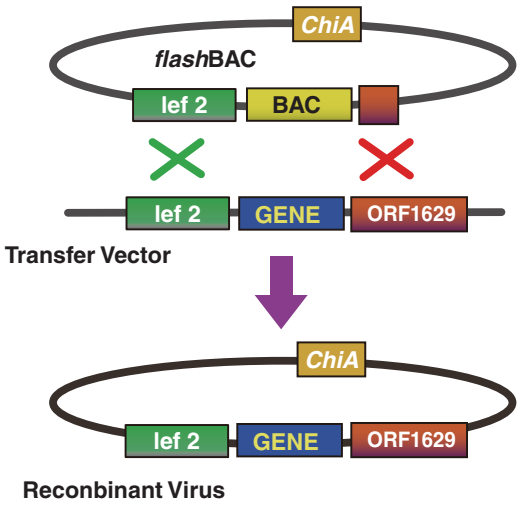


図 *flash*BAC™ DNA と目的遺伝子を含むトランスファーベクターが相同組換えを起こすと、昆虫細胞内で増殖可能な組換えウイルスができる。

表 *flash*BAC™ シリーズの比較

品名	特長	タンパク質の安定化と収量増加のために欠損させた遺伝子				
		chiA ※1	*V-Cath* ※2	*p10* ※3	*p74* ※4	*p26* ※5
*flash*BAC™	細胞質／核タンパク質の発現に	○				
*flash*BAC GOLD™	分泌／膜タンパク質の収量を UP！	○	○			
本キットで使用 *flash*BAC ULTRA™	細胞質／核／分泌／膜タンパク質の収量を UP！	○	○	○	○	○

※1 *chiA* は外因性または内因性キチナーゼ活性をコードするキチナーゼ遺伝子です。*chiA* が欠損すると、分泌性タンパク質および膜タンパク質の発現が大幅に改善されます。
※2 *V-cath* 遺伝子を欠損させると、分泌系パスウェイの発現効果が増加し、分泌タンパク質や膜タンパク質のリコンビナントタンパク質の収量が劇的に向上します。
※3 *p10* 遺伝子を欠損すると polh 活性が増加するため、リコンビナントタンパク質の発現、核および細胞の安定性が増加します。さらに長期のタンパク質発現を保証します。
※4 *p74* 遺伝子を欠損すると、リコンビナントバキュロウイルスのバイオセーフティプロファイルが増加し、昆虫腸壁が損傷しません。
※5 *p26* 遺伝子は、機能が明らかになっていない 240 アミノ酸ポリペプチドで、5' 末端は、*p10* と相同です。*p26* の 3' 末端を削除し、*lacZ* または *p10* を融合すると *in vitro* においてウイルス複製に影響がないこと示されています。

［Oxford Expression Technologies　メーカー略号：OET］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
*baculo*COMPLETE™ protein expression kit	400100	1 kit（5 reactions）	¥201,000	冷凍 液窒

■その他 *flash*BAC™ シリーズのタンパク質発現システム

[Oxford Expression Technologies　メーカー略号：OET]

品名／構成内容	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
*flash*BAC™	100150	5 rxns	¥56,000	冷凍
● *flash*BAC™ DNA	100151	24 rxns	¥238,000	冷凍
●ポジティブコントロール（*lacZ* レセプター遺伝子を含むトランスファーベクター DNA）	100152	96 rxns	ご照会	冷凍
*flash*BAC GOLD™	100200	3 rxns	¥81,000	冷凍
● *flash*BAC GOLD™ DNA	100201	5 rxns	¥129,000	冷凍
●トランスファーベクター DNA（*lacZ* レポーター遺伝子含）（ポジティブコントロール）	100202	24 rxns	¥347,000	冷凍
	100203	96 rxns	ご照会	冷凍
*flash*BAC ULTRA™	100300	5 rxns	¥146,000	冷凍
● *flash*BAC ULTRA™ DNA	100301	24 rxns	ご照会	冷凍
●ポジティブコントロール（*lacZ* レポーター遺伝子含むトランスファーベクター DNA）				
*flash*BAC™ Selection Box	100400	9 rxns	¥238,000	冷凍
●最適なシステムをお選びいただくために：上記 3 商品が各 3 回分入った便利でお得なパックです。				

■関連商品　バキュロウイルストランスフェクション試薬および力価測定キット

[Oxford Expression Technologies　メーカー略号：OET]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
*baculo*FECTIN™ Ⅱ	300105	150 µL	¥28,000	凍
	300106	1 mL	¥129,000	凍
*baculo*QUANT™ All-IN-ONE Virus Extraction & Titration Kit	100602	100 rxns	¥134,000	凍

▶▶▶ 昆虫細胞による発現

*super*Sf9 cells® バキュロウイルス発現システム用細胞株

組換えタンパク質の収率が格段に UP！

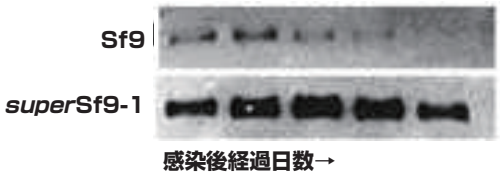
*super*Sf9 cells® は、タンパク質を安定的に発現させるために Sf9 細胞に改良を加えた昆虫細胞です。様々なタイプの組換えタンパク質発現用に 3 種類の細胞をご用意しており、同社の *flash*BAC™ システム（前ページ参照）と一緒にお使いいただくと最大限の効果を発揮します。
（すべてのバキュロウイルス発現ベクターシステムに対応）

特長

- ●安定的にタンパク質を発現
- ●長期にわたってのタンパク質発現が可能
- ●従来の Sf9 細胞と比べて、タンパク質の収率が 15 倍アップ

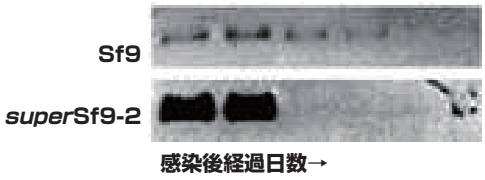
通常のタンパク質発現用　*super*Sf9-1

- ●Sf9 細胞株と比べて、バキュロウイルス感染後の発現時間が長い
- ●細胞内・膜・分泌タンパク質に最適



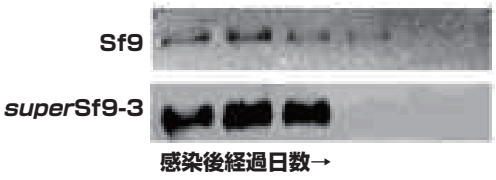
毒性タンパク質発現用　*super*Sf9-2

- ●バキュロウイルス感染後、短期間で高発現
- ●分解しやすいタンパク質、毒性タンパク質の発現に最適



未知のタンパク質発現用　*super*Sf9-3

- ●幅広い組み換えタンパク質発現に適応
- ●混合特性を持つタンパク質、毒性や安定性が未知のタンパク質の発現に最適



[Oxford Expression Technologies　メーカー略号：OET]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
*super*Sf9-1 insect cells	600102	2 vials（1 × 10^7 cells/vial）	¥244,000	液窒
*super*Sf9-2 insect cells	600103	2 vials（1 × 10^7 cells/vial）	¥244,000	液窒
*super*Sf9-3 insect cells	600104	2 vials（1 × 10^7 cells/vial）	¥244,000	液窒
Sf9 insect cells	600100	1 × 10^7 cells	¥65,000	液窒

WEB 記事 ID 検索 ▸▸▸ 12347

IP フリー *Pichia pastoris* 株

ATUM

ライセンスフリー！ ATUM 社の *Pichia* 発現ベクターにそのままご利用いただけます！

ATUM社では、種々の研究用IP（ライセンス）フリー*Pichia pastoris*株をご用意しています。これらの菌株はライセンシングの制限なくご利用いただける上、ATUM 社の全 *Pichia* 発現ベクター（次ページでご紹介）にそのままご利用いただけます。

Pichia 株により作られたタンパク質とペプチドは IP フリーで、営利団体の方も研究用としてご利用いただけます。

※ただし、*Pichia* 株または *Pichia* 株由来のいずれの菌株も、お客様より第三者への譲渡または転売、変異体の転売、または本製品を使用した第三者への（受託などの）サービス提供は、いかなる場合でも行っていただくことができません。

※本株は BioGrammatics Inc. と ATUM 社の共同開発品です。

Pichia 株情報

PPS-9010（野生型）：

Pichia pastoris 野生型発現株。本株は、全長ゲノム配列決定および 5,000 以上の遺伝子からなるトランスクリプトームにおける振盪培養や発酵培養など種々の生育条件下におけるデータセットをもとに特性づけられています。BioGrammatics 社では、発酵により湿った細胞ペレットで 700 g/L の細胞密度を得ています。

PPS-9011（aox1Δ（MutS））：

メタノール資化が緩徐な PPS-9010 の派生体。AOX1 遺伝子の翻訳領域を ATG から STOP コドンまで欠失しています。本株は、炭素源としてメタノールのみを利用する場合は緩徐に生長し、発酵最適化の検討に有用です。

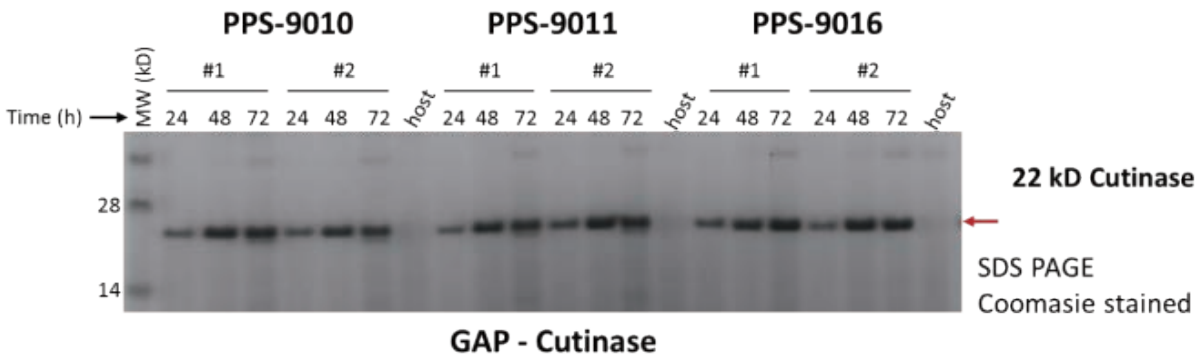
PPS-9016（pep4Δ, prb1Δ）：

PPS-9010 由来のプロテアーゼ欠損株。BG16 の遺伝子型は pep4Δ, prb1Δ。発酵の条件検討におすすめです。

プロテアーゼ欠損株はいくつかの外来性タンパク質崩壊の軽減に効果的であることが示されています（White *et al*. 1995; Brierley 1998）。特に、分泌型組換えタンパク質の発酵槽培養において顕著です。これは、高い細胞密度と細胞の可溶化が少ないため、これらの液胞プロテアーゼ濃度が高くなるためです。

残念ながら、これらのプロテアーゼ欠損株は PEP4 に関して野生型ほど活発ではありません。生存率が低い上に生長速度が遅いため、形質転換がより困難であり、振盪フラスコや発酵槽培養での取扱いが困難です。したがって、プロテアーゼ欠損株は、タンパク質分解を低減する他の方法（例：アミノ酸やペプトンを培養培地に添加するなど担体化合物の添加）で充分な収量が得られなかった場合など、特定状況下でのご利用を推奨いたします。特に、発現実験においては野生型 *Pichia pastoris* 株とプロテアーゼ欠損型ではない菌株を第一選択とされることをおすすめしています。

発現データ



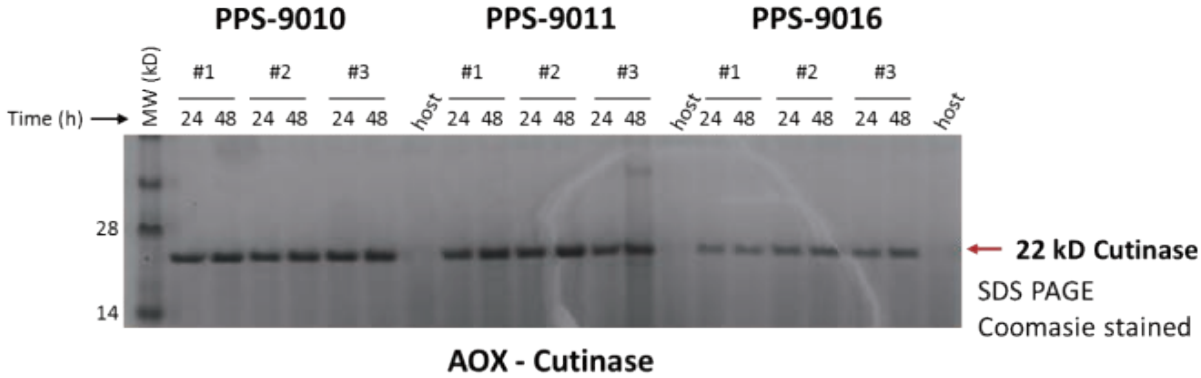


図 1　3 種の *Pichia* 株でそれぞれクチナーゼ（pD-912）を発現させた結果

GAP プロモータ（上部パネル）または AOX1 プロモータ（下部パネル）制御下で PPS-9010（野生型）、PPS-9011（aox1Δ（MutS））および PPS-9016（pep1Δ, prb1Δ）の 3 種の *Pichia* 株においてクチナーゼ（pD-912）を発現させた。3 種の株それぞれのコンピテントセルを作製し、45 μL の細胞に 5 μL の開環した DNA を形質転換した。YPDS 上で 1 時間培養後、1 mg/mL のゼオシン添加 YPDS 上に播種し 30℃で培養した。各菌株の形質転換体より 2、3 コロニーを選択し、BMGY 培地（1% 酵母エキス、2% ペプトン、13.4 g/L YNB、0.1 M $KHPO_4$ pH 6、1% グリセロール、0.004 mg/L ビオチンおよび 300 μg/mL ゼオシン）で培養し、1 日あたり 10% グリセロールを 3 日間（GAP コンストラクト）または 1 日あたり 0.5%（v/v）メタノールを 2 日間（AOX1 コンストラクト）補充した。形質転換していない細胞をネガティブコントロールとし、50 μL のサンプルを毎日採取し、SDS PAGE でクチナーゼ発現を確認した。

株継代方法

菌株は YPD + 1M ソルビトール培地に入れ、環境温度下でご送付いたします。入手後は 4℃で保存してください。1 週間以内に、YPD 寒天培地（Teknova, Cat. No. Y1000：1% 酵母エキス、2% ペプトン、2% グルコース、2% 寒天を含む）に単一コロニーを形成させるよう画線して 30℃で 2 日間培養します。

各菌株より単一コロニーをとり、YPD 培地（Teknova, Cat. No. Y5000：1% 酵母エキス、2% ペプトン、2% グルコース）で一晩培養します。菌体を遠心（500 × g で 5 分間）後、30% グリセロールを含む YPD 培地に再懸濁してマスターストックを作製します。菌体はドライアイス / エタノール槽で凍結後、−80℃で保存します。

［ATUM (Former DNA2.0 Inc.)　メーカー略号：DNA］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Pep4, prb1 *Pichia* strain	PPS-9016	200 µL	¥120,000	㊐
Aox1 (MutS) *Pichia* strain	PPS-9011	200 µL	¥78,000	㊐
Wild type *Pichia* strain	PPS-9010	200 µL	¥78,000	㊐
Strain kit (3 strains) *Pichia* strain　【上記 3 つの株のセット品】	PPS-KT	1 kit	¥221,000	㊐

【ご注意】
商品のお受け取り後すぐに、細胞を起こしていただくことを推奨している製品です。

■関連商品　*Pichia* 発現ベクター

メチロトローフ酵母 *Pichia patoris* の発現ベクターは、ミリグラムからグラム量のタンパク質の発現に有用なシステムです。ATUM 社では、細胞質および分泌型発現用の発現ベクターをご用意しています。

分泌型異種タンパク質の発現に対する主な利点は、*Pichia patoris* はネイティブタンパク質の発現量が非常に少ないことです。これは、培地中のトータルタンパク質の大多数が分泌された異種タンパク質で構成されるため、下流のタンパク質精製が促進されることを意味します。異種タンパク質の分泌には、分泌経路へと促す分泌シグナル配列の存在が必要となり、最適な分泌シグナルは、発現させるリコンビナントタンパク質の種類に依存します。

異種タンパク質の発現における利点

- ●複雑な培地または培養条件は不要
- ●真核生物のタンパク質合成経路
- ●最低限の培地量で高い細胞密度の培養が可能
- ●統合ベクターによりリコンビナント遺伝子の遺伝的安定性が向上
- ●細胞内 / 細胞外にて高いタンパク質発現量
- ●グリコシル化や、ジスルフィド結合形成、タンパク質プロセシングのような真核細胞修飾に優れている

図 2　Integrating Vectors（*Pichia*）：Cytoplasmic Expression
品番：pD902 のプラスミドマップ。これらのベクターは、分泌シグナルの有無にかかわらず使用できる。また、誘導性（AOX）または構成的（GAP）プロモーターのいずれかを持ち、ゼオシン耐性を持っている。ベクターは酵母のゲノムに組み込まれる。

商品リストは Web へ

ATUM 社の *Pichia* 発現ベクターは下記をラインアップしています。
- ●Integrating Vectors：Cytoplasmic Expression
- ●*Pichia* Electra Daughters：AOX secreted

これらのベクターの詳細や商品リストにつきましては、コスモ・バイオの Web をご覧ください。 記事 ID 11747 検索

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 2499

リーシュマニア株を用いた発現システム *in Vivo* LEXSY

▶▶▶ JENA BIOSCIENCE

哺乳動物と非常に近い翻訳後修飾が可能、N- グリコシル化パターンが同じ

JENA BIOSCIENCE 社が独自に開発した LEXSY は、原生動物であるリーシュマニアの発現システムを用いて真核生物のタンパク質を発現させるシステムです。真核生物による発現の長所となるタンパク質の折り畳み構造や修飾の再現性と、原核生物による発現の長所となるシンプルさと扱いやすさを併せ持っています。

Leishmania tarentolae は、5 × 15 μm の大きさの、単細胞で鞭毛のある真核生物です（図 1）。宿主生物である *Tarentolae annularis* と *Tarentolae mauritanica* から単離され、その後何十年にもわたって実験室などで扱われています。我々哺乳類に対して病原性はなく、バイオセーフティーレベル 1 での使用が承認されています。

図 1　宿主の *Tarentolae annularis* と *Leishmania tarentolae*
LEXSY（Leishmania tarentolae protein expression system）に用いる *L. tarentolae* は、ヤモリに寄生する原生動物で、ヒトへの病原性はありません。原生動物の中のキネトプラスト目に属し、従来の発現システムで用いられる生物種と比べて、進化的に脊椎動物と近縁です。また、*L. tarentolae* を用いた際、発現タンパク質の翻訳後修飾（N- グリコシル化パターン）は、哺乳動物のパターンと非常によく似ています（図 4）。

特長

他の発現システムの弱点を克服

大腸菌などの原核生物の発現システムは、タンパク質のフォールディングと翻訳後修飾に不可欠な成分を欠いているため、多くの場合、高等生物の機能性タンパク質の生産には適していません。哺乳類や昆虫細胞などの真核生物の発現システムは、世代時間が長くタンパク質を得るのに時間がかかり、そしてさらに収量が少ないため、大腸菌を使用した場合よりもはるかに高いコストが発生します。LEXSY はこれらの制約を克服し、真核生物と原核生物の両システムの利点、すなわち真核生物のタンパク質合成とフォールディング / 修飾機構と、原核生物の培養時間の短縮と取り扱いの容易さを組み合わせています。

＜その他特長＞

- ●バイオセーフティーレベルは *E.coli* と同様の S1
- ●*E. coli* シャトルベクターを用いた容易なプラスミド生産
- ●エレクトロポレーションによる高いトランスフェクション効率
- ●コスト効率の高い培地で 26℃の培養（世代時間 ： 6 ～ 8 時間）、特別な培養器具は必要なし
- ●LEXSY で使用する発現株は短時間で細胞密度が高く（10^9 cells/mL）なる
- ●回収やその後の操作が容易（図 4、5、6）

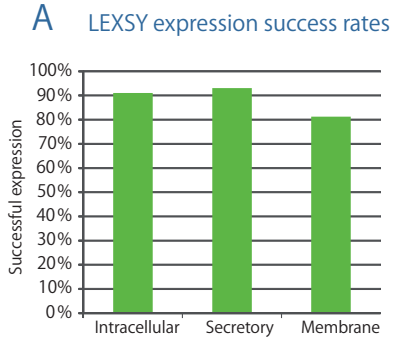


図 2　LEXSY タンパク質発現の成功率
これまでに 100 を超えるタンパク質が LEXSY で発現されています。発現の成功率は 90%であり、発現が困難なタンパク質に適したシステムと言えます。

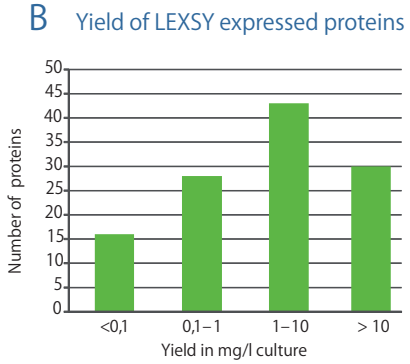


図 3　LEXSY 発現の収量
LEXSY で発現された全てのタンパク質の 60%以上から、1 mg/L を超える収量が得られています。一部のタンパク質では最大 500 mg/L のタンパク質が得られています。

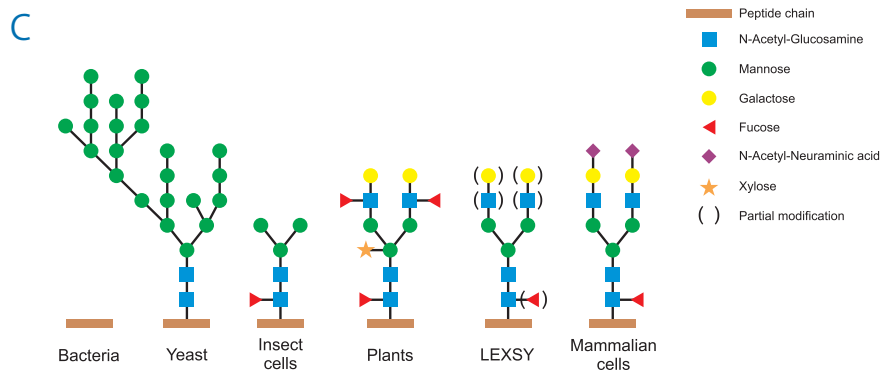
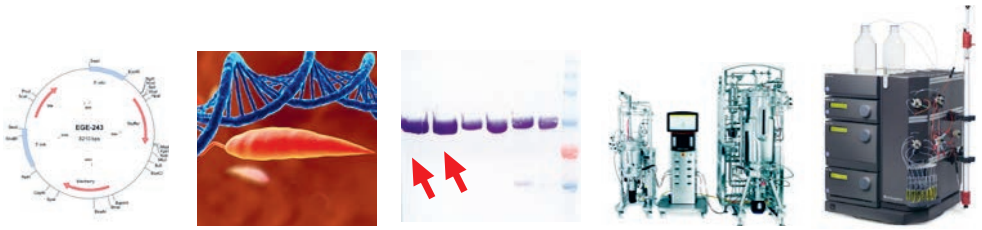


図 4　哺乳類に近い翻訳後修飾（グリコシル化）
ヒトエリスロポエチン（EPO）、ヒトインターフェロンガンマ（hu IFNγ）、Toxoplasma gondii 表面抗原 SAG1 および宿主表面糖タンパク質 GP63 を使用して、LEXSY で発現させたタンパク質のグリコシル化を確認した。
すべての場合において、哺乳類型のグリコシル化に類似した構造である、二分岐、ガラクトシル化、コア -α-1,6- フコシル化 N- グリカン構造が見られ、LEXSY のグリコシル化能が示される結果となった。（Breitling *et al*. 2002）

A



Expression plasmid construction	Transfection & selection	Expression evaluation	Scale-up	Protein purification
1 week	2 weeks	1 week	1 week	1 week

図 5 LEXSY テクノロジーにより、条件評価サイクルの短縮が可能になります。標的遺伝子を LEXSY 発現ベクターに挿入し、LEXSY ホストをエレクトロポレーションでトランスフェクトします。小規模の浮遊培養（通常 1 ～ 10 mL）で組み換えクローンの発現評価を行い、大規模培養でタンパク質の生産と精製をします。通常、クローニングから精製タンパク質まで 6 週間かかります。撹拌懸濁培養での LEXSY 株の急速な増殖により、週に最大 40 世代が達成されましたが、昆虫または哺乳類の細胞では、それぞれ週に 10 世代または 7 世代しか得られませんでした。

LEXSY grows faster than insect and mammalian cells

B

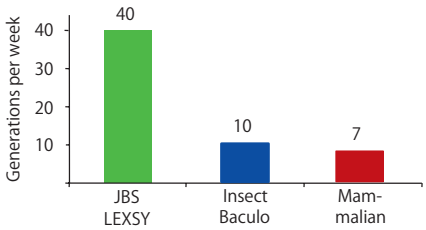


図 6　LEXSY は昆虫細胞や哺乳類細胞より速く増殖する
LEXSY 株は撹拌培養により、最大で週に 40 世代達成しましたが、昆虫または哺乳類の細胞では、それぞれ週に 10 世代または 7 世代しか達しませんでした。

LEXSY grows to higher densities than insect and mammalian cells

C

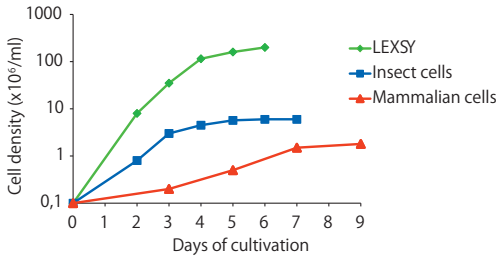


図 7　LEXSY は昆虫細胞や哺乳類細胞よりも高密度まで培養できる
LEXSY は細菌培養と同程度の細胞密度になるまで増殖させることができる。昆虫細胞や哺乳類細胞との比較のため、10^5 cells/mL を同様に培養し、増殖をモニターした。

In Vivo LEXSY

記事 ID 12452 検索

In Vivo LEXSY は、「恒常発現用」または「Tet 誘導発現用」の 2 つシステムがあります。

「恒常発現用」LEXSY は、多種多様なタンパク質の効率的な生産を可能にする基本的なシステムです。タンデム 18S rRNA をコードする染色体の ssu 遺伝子座に、発現カセットを組込むことがベースになっています（図 4）。このクラスターは内因性 RNA ポリメラーゼ I によって転写されます。

「Tet 誘導発現用」LEXSY（図 9）は、よく知られている T7 発現システムに類似しており、タンパク質発現の厳格な制御が可能です。発現は、誘導物質（テトラサイクリン）の添加によって開始されるので、発現タンパク質が宿主に対して毒性を示す可能性を軽減できます。また、いくつかの細胞内タンパク質は、誘導発現を使用すると、恒常的発現よりも 5 ～ 10 倍多く産生されることが示されています。

恒常発現と Tet 誘導発現の両方において、クローニングの方法を選択するだけで、同じベクターからのタンパク質の細胞内発現と分泌発現を行うことが可能です。分泌発現は、標的遺伝子の成熟部分（mature part of the target gene）を、ベクター（図 10）上にある配列を含む Leishmania シグナルペプチドと融合させることで可能となります。この方法は、ジスルフィド結合の形成やグリコシル化などの翻訳後修飾を受けるタンパク質に推奨されます。LEXSY システムは、非常に均一な哺乳類型 N- グリコシル化が行われることが示されています（Breitling *et al*. 2002、図 2 および 13）。

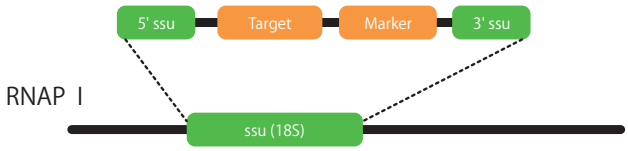


図 8　恒常発現用 LEXSY の構造。トランスフェクション後、標的遺伝子を運ぶ直線化された発現カセットが、相同組換えによって 18S rRNA 遺伝子（ssu）の 1 つに組み込まれます。4 つの代替抗生物質耐性マーカーが利用可能です。

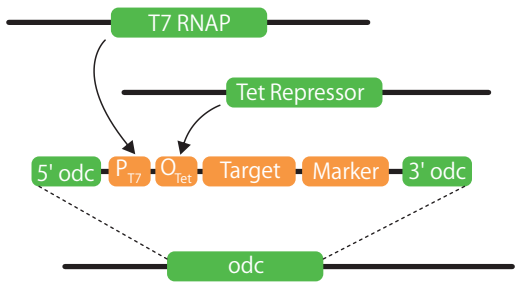


図 9　Tet 誘導発現 LEXSY の構造
設計した LEXSY 宿主 T7-TR は、細菌の T7RNA ポリメラーゼと TET リプレッサーを発現します。トランスフェクション標的遺伝子は、T7 プロモーター /TET オペレーターアセンブリの制御下で発現されます。

In Vivo LEXSY の特長

- ●クローニングの方法を選ぶだけで、同じベクターからタンパク質の細胞内発現と分泌発現が行える
- ●分泌発現は、ジスルフィド結合の形成やグリコシル化など、翻訳後修飾を受けるタンパク質発現に推奨、非常に均一な哺乳動物型の N- グリコシル化が行われる
- ●恒常発現用 LEXSY では最大 4 つ、Tet 誘導 LEXSY では最大 2 つまでのターゲットタンパク質を共発現できる

構成内容

【恒常発現用 LEXSY 発現キット】

- ●LEXSY 宿主株 *L. tarentolae* P10（グリセロールストック× 3）
- ●pLEXSY-2 ベクター（各選択マーカー）
- ●1 L LEXSY BHI 培地 調製用コンポーネント
- ●抗生物質（1 L 培地用）
- ●プライマーセット（インサートシーケンシング、PCR 用）

【Tet 誘導 LEXSY 発現キット】

- ●LEXSY 宿主 T7-TR（T7 RNA ポリメラーゼと TET リプレッサーを発現）
- ●pLEXSY_I ベクター（各選択マーカー）
- ●1 L LEXSY BHI 培地 調製用コンポーネント
- ●抗生物質（1 L 培地用）
- ●プライマーセット（インサートシーケンシング、PCR 用）

各キットには、品名に示されている発現ベクターが含まれています。Tet 誘導発現キットには、さらに、発現部位に egfp 遺伝子が挿入されたコントロールベクターが含まれます。発現キットのアップグレードのために、すべての LEXSY 発現ベクターも個別に入手できます。すべての pLEXSY ベクターのクローニングサイトは互換性があります。

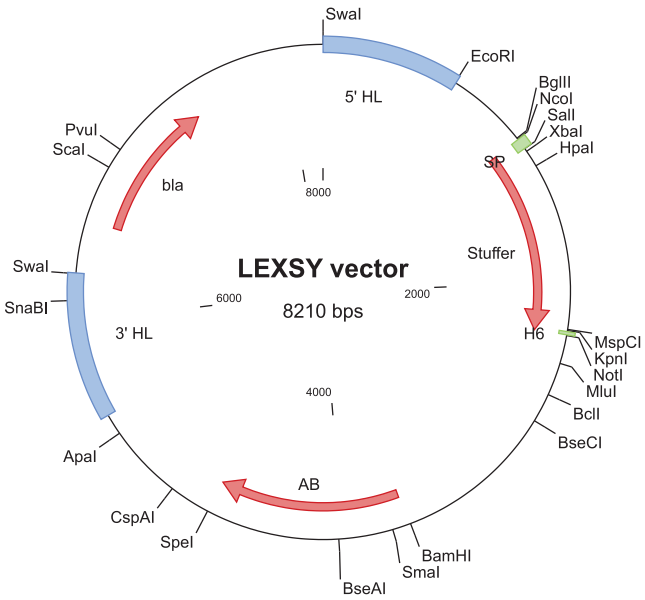


図 10　LEXSY 発現ベクターの一般的なマップ

■*In Vivo* LEXSY 発現キット

LEXSYcon2.1 Expression Kit

[JENA BIOSCIENCE GMBH　メーカー略号：JNA]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
LEXSYcon2.1 Expression Kit, contains the integrative vector pLEXSY-ble2.1, U2	EGE-1310BLE	1 kit	¥317,000	室冷凍凍
LEXSYcon2.1 Expression Kit, contains the integrative vector pLEXSY-bsd2.1, U2	EGE-1310BSD	1 kit	¥317,000	室冷凍凍
LEXSYcon2.1 Expression Kit, contains the integrative vector pLEXSY-hyg2.1, U2	EGE-1310HYG	1 kit	¥317,000	室冷凍凍
LEXSYcon2.1 Expression Kit, contains the integrative vector pLEXSY-neo2.1, U2	EGE-1310NEO	1 kit	¥317,000	室冷凍凍
LEXSYcon2.1 Expression Kit, contains the integrative vector pLEXSY-pac2.1, U2	EGE-1310PAC	1 kit	¥317,000	室冷凍凍
LEXSYcon2.1 Expression Kit, contains the integrative vector pLEXSY-sat2.1, U2	EGE-1310SAT	1 kit	¥317,000	室冷凍凍

LEXSinduce3 Expression Kit

[JENA BIOSCIENCE GMBH　メーカー略号：JNA]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
LEXSinduce3 Expression Kit, contains the integrative vector pLEXSY_I-ble3, for inducible cytosolic or secretory protein expression	EGE-1410BLE	1 kit	ご照会	室冷凍凍
LEXSinduce3 Expression Kit, contains the integrative vector pLEXSY_I-blecherry3, for inducible cytosolic or secretory protein expression	EGE-1410BLECHERRY	1 kit	ご照会	室冷凍凍
LEXSinduce3 Expression Kit, contains the integrative vector pLEXSY_I-neo3, for inducible cytosolic or secretory protein expression	EGE-1410NEO	1 kit	ご照会	室冷凍凍

LEXSinduce4 Expression Kit

[JENA BIOSCIENCE GMBH　メーカー略号：JNA]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
EGE1420BLECHERRY	EGE-1420BLECHERRY	1 kit	ご照会	室冷凍凍

■関連商品　LEXSY 発現ベクター

［JENA BIOSCIENCE GMBH　メーカー略号：JNA］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
pLEXSY-ble2.1	EGE-271	5 µg	¥159,000	凍
pLEXSY-hyg2.1	EGE-272	5 µg	¥159,000	凍
pLEXSY-neo2.1	EGE-273	5 µg	¥159,000	凍
pLEXSY-sat2.1	EGE-274	5 µg	¥159,000	凍
pLEXSY-bsd2.1	EGE-275	5 µg	¥159,000	凍
pLEXSY-pac2.1	EGE-276	5 µg	¥159,000	凍
pLEXSY_I-blecherry3	EGE-243	5 µg	¥159,000	凍
pLEXSY_I-ble3	EGE-244	5 µg	¥159,000	凍
pLEXSY_I-neo3	EGE-245	5 µg	¥159,000	凍
pLEXSY_IE-blecherry4	EGE-255	5 µg	¥159,000	凍

■関連商品　LEXSY プレーティングキット

組換え LEXSY 細胞は、液体培地（ポリクローナル選択）またはプレート（クローン選択）で選択する必要があります。LEXSY プレーティングキットは、クローンの選択に必要なすべてのコンポーネントを含みます。補助コンポーネントが異なる 3 種類のキットがあります。

［JENA BIOSCIENCE GMBH　メーカー略号：JNA］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
LEXSY Plating Kit basic	ML-453	40 plates	¥208,000	室冷凍

■関連商品　複合 LEXSY 培地

LEXSY の浮遊培養は、複合培地または合成培地中で行います。通常の培養、トランスフェクション、凍結保存、発現の評価には、脳や心臓抽出物を含む複合 LEXSY BHI 培地を使用します。アニマルフリーの培養には、酵母や大豆抽出物を含む LEXSY YS 培地もお選びいただけます。どちらの培地でも、実験室での撹拌培養で、最大 5×10^8 cells/mL の細胞密度になります。

［JENA BIOSCIENCE GMBH　メーカー略号：JNA］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
LEXSY BHI - Liquid Media Kit	ML-411S	1 L	¥31,000	室冷凍
	ML-411L	5 L	¥119,000	室冷凍
LEXSY BHI - Powder Media Kit	ML-412S	1 L	¥16,000	室冷凍
	ML-412L	5 L	¥60,000	室冷凍
	ML-412XL	10 L	¥116,000	室冷凍
	ML-412XXL	50 L	¥462,000	室冷凍

■関連商品　その他商品

In Vivo LEXSY シリーズのその他商品は、コスモ・バイオの Web をご覧ください。 記事 ID 12452 検索

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 8897

遺伝子合成＆最適化受託サービス

ATUM

[ATUM (Former DNA2.0 Inc.)　メーカー略号：DNA]

メーカー独自のアルゴリズムにより、タンパク質発現量が従来の 10 ～ 100 倍！

ご希望の遺伝子配列を迅速に合成し、お好みのベクターへクローニングする遺伝子合成受託サービスです。
さらに、最大限のタンパク質発現が得られるよう遺伝子配列の最適化サービスも承ります。

特長

- ●**非常に高品質**：配列の最適化を行うことで、長鎖配列（200 bp ～ 60 kb、最長：約 400 kb）の配列やクローニングが難しい配列も合成
- ●制限酵素部位、プロモーター、その他モチーフ配列の追加・除去のアレンジがフレキシブル
- ●ATUM 社独自の GeneGPS™ アルゴリズム（図 1 ～ 3）により、最大限のタンパク質発現が得られるよう配列の最適化が可能
- ●様々なベクターにクローニング可能：市販ベクターの大部分、ATUM 社の発現ベクター（コスモ・バイオの Web、記事 ID 8898 参照、大腸菌、哺乳類、酵母用から選択可能）またはお客様のお持ちのベクターからお選びいただけます。
- ●サブクローニングやライゲーション操作は不要
- ●遺伝子バリアントやライブラリも迅速に合成：デザイン用のソフトウェア※（Gene Designer 2.0）を無償でご利用いただけます。

※Gene Designer 2.0 は、ご自身で簡単に配列のデザインや一次的な最適化をしていただくためのソフトウェアで、GeneGPS™ アルゴリズムは含まれておりません。GeneGPS™ アルゴリズムによる最適化がご必要な場合には、お見積もり依頼時にご指定ください。

GeneGPS™ アルゴリズム

ATUM 社では特に、得意のバイオインフォマティクスによる経験を活かし、独自のコドン最適化用アルゴリズム“GeneGPS™”（特許取得済み）を開発しています。この GeneGPS™ は他社のアルゴリズムとは異なり、デザイン配列から予想されるタンパク質発現量と、実際に実験にて検証したタンパク質発現量の相関性データを基に作成されたアルゴリズムです。そのため、他社のアルゴリズムでデザインされたものと比較して、10 ～ 100 倍ものタンパク質量が得られます。

結果は、下記論文で報告されています。

Welch M, Govindarajan S, Ness JE, Villalobos A, Gurney A, *et al*. (2009) Design Parameters to Control Synthetic Gene Expression in *Escherichia coli*. PLoS ONE 4(9): e7002. doi:10.1371/journal.pone.0007002

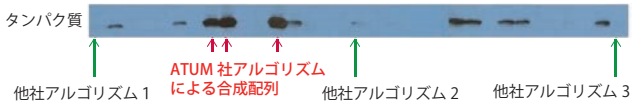


図 1　*S. cerevisiae* でのヒト膜タンパク質発現
膜タンパク質等の発現が難しいタンパク質でも、ATUM 社の技術で高レベルの発現が得られる。
・膜分画のトータルタンパク質
・WT 遺伝子の発現は検出されず
・最大のタンパク質発現レベルはおよそ 1 mg/mL

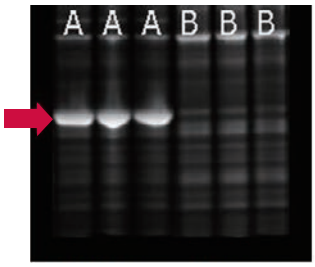


図 2　他社アルゴリズムとの比較
大腸菌で発現させたトータルタンパク質を PAGE で分離後、CBB 染色（各サンプルは独立の三連操作にて調製した）。
A：ATUM 社 GeneGPS™ アルゴリズム
B：他社アルゴリズム

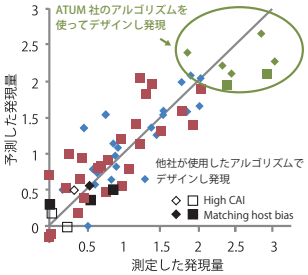


図 3　ATUM 社アルゴリズムと実際のタンパク質発現量の相関性
ポリメラーゼバリアント（■印）と scFv 抗体バリアント（◆印）の発現を示した。各印は、異なるコドンバイアス由来のデータを示し、ATUM 社のアルゴリズムで合成した遺伝子は緑色で示した。黒印は、他社が使用した 2 種類の他社アルゴリズムを示し、◇□印は大腸菌ゲノムバイアスにマッチングし、◇□印は CAI（Codon Adaptation Index）に基づいたアルゴリズムを使用している。

納品形態

- ●目的の合成遺伝子が挿入済みのプラスミド DNA 2 ～ 5 μg（精製済み）（ラージスケールの調製も別途承ります）
- ●遺伝子の両方鎖をカバーするシーケンスデータ（電子ファイル）
- ●プラスミドマップ（電子ファイル）

追加サービス

ATUM 社では遺伝子合成＆最適化受託サービスに加え、下記の様々な追加サービスをご用意しております。目的遺伝子が最適な状態でタンパク質発現しているかどうかをご確認いただけます。

タンパク質発現テストサービス

目的合成遺伝子のタンパク質発現レベルを確認する追加サービスです。

このサービスでは、目的の合成遺伝子を ATUM 社が所有する T5 プロモーターベクターの pJExpress 400 シリーズ（pJexpress 401, 402, 404, 406）にクローニングし、大腸菌でタンパク質発現レベルを検証します。

目的タンパク質の発現が難しい場合などに、ATUM 社で発現プロトコールの条件検討等を行います。この追加サービスにより、実際のタンパク質発現レベルを迅速に知ることができます。

タンパク質発現保証サービス

目的合成遺伝子が下記条件を満たす場合に、合成遺伝子がタンパク質発現することを保証する追加サービスです。

発現保証は、下記条件を満たした合成遺伝子のみに適用されます。

・ATUM 社の GeneGPS™ 最適化アルゴリズムでデザインされた遺伝子
・ATUM 社 *in silico* 解析の必要条件を満たす遺伝子

※膜タンパク質の一部、大腸菌に毒性を示すことが知られているタンパク質や非常に小さいタンパク質は対象外です。

このサービスでは、目的の遺伝子を ATUM 社所有の T5 プロモーターベクター pJExpress 400 シリーズ（pJexpress 401, 402, 404, 406）にクローニングし、大腸菌にてタンパク質の発現レベルをテストします。

※発現の基準は、ATUM 社の基準条件（ATUM 社の発現条件で 5.0 OD_{600} culture）下で＞ 5 μg/mL *E. coli* culture です（SDS-PAGE と WB の両方またはいずれか一方で検出可）。

お見積もり・お問い合わせ先

本サービスについてのお見積もりやご質問はコスモ・バイオ 創薬・受託サービス部までお問い合わせください。秘密保持契約のご希望につきましても、ご対応可能です。

TEL：03-5632-9615
FAX：03-5632-9614
E-mail：Atum@cosmobio.co.jp

タンパク質大量生産受託
無細胞発現
大腸菌による発現
哺乳類細胞による発現
昆虫細胞による発現
酵母による発現
原生動物による発現
その他

▶▶▶ その他

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 33607

リコンビナントタンパク質発現確認用ポジティブコントロール

ROCKLAND

そのリコンビナント、発現してますか？

MBP-T7-HSV-cMyc-VSV-Glu-Glu-V5-E-tag-Flag-S tag-HA-6XHis の 12 種類のタグのリコンビナントタンパク質を発現させた *E.coli* ライセートです。各種タグ付きリコンビナントタンパク質を発現させ、ウエスタンブロットで確認する際、リコンビナントタンパク質（タグ）が発現しているかを確認するためのコントロールとしてお使いいただけます。

特長

- ●タグ付きタンパク質を作製した際のポジティブコントロールに最適（ウエスタンブロットの際、各種タグ抗体により 58 kDa のタンパク質が検出されます）
- ●Ready-to-Use
  1 ×サンプルバッファーでご提供：62.5 mM Tris HCL, 2% SDS, 10% Glycerol, 0.005% Bromophenol Blue, pH 6.8

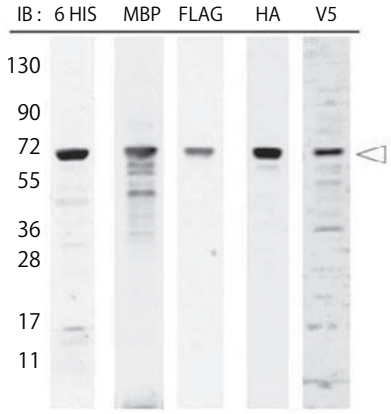


図　エピトープタグタンパク質マーカーライセートを用いたウエスタンブロット
6HIS 抗体、MBP 抗体、FLAG 抗体、HA 抗体、V5 抗体を用いてウエスタンブロットを行った。各抗体により、58 kDa に強いシグナルが検出された。

［Rockland Immunochemicals, Inc　メーカー略号：RKL］

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
12 Epitope Tag Protein Marker Lysate	MB-301-0100	100 µL	¥38,000	凍

抗体百科
■ 探しま章 Web 検索データベース
100 万品目以上の品ぞろえ、主要な約 12,000 ターゲットの抗体を国内に在庫。
■ 作りま章 抗体作製受託サービス
お客様とのコミュニケーションを大切にし、高い技術力であらゆるニーズに対応。
ベプチドン
「探しま章」はトップページのこのバナーをクリック！
「コウタイガー」コスモ・バイオ オリジナルキャラクター
コスモ・バイオの抗体百科に Go！ www.cosmobio.co.jp

WEB 記事 ID 検索 ▶▶▶ 36660

Proflo His-tag quick test

PROGEN passion for research

サンプル中の His-tag タンパク質を簡単に検出

His-tag タンパク質を迅速、簡便に検出できるイムノクロマトラテラルフローアッセイです。

His-tag タンパク質の精製過程やスケールアップの過程における、タンパク質のモニタリングや確認の手法としてご利用いただけます。SDS-PAGE やウエスタンブロット等に比べ、迅速、簡便に確認可能です。また、2～50 μg/mL（25 kDa タンパク質）の範囲で半定量的に検出でき、精製組み換えタンパク質の測定同様、細胞ライセート中の His-tag タンパク質の測定にもご利用いただけます。

特長

●迅速　→ 10 分で結果が出せる
●簡単操作　→操作は 3 ステップのみ

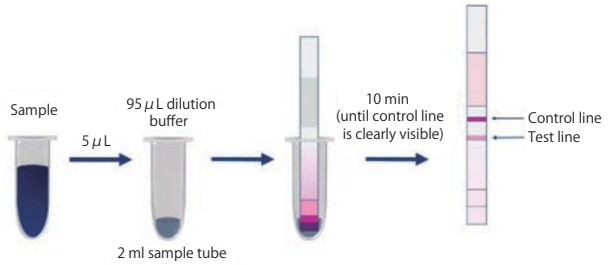


図 1　使用方法
1. Dilution buffer 95 μL を付属の 2 mL チューブに入れる
2. サンプル（細胞ライセート、精製画分等）5 μL を 2 mL チューブに入れ、ピペッティングにより混合する
3. テストストリップを 2 mL チューブに入れ、コントロールラインが明確に視認できるまで 10 分程度待つ

結果の確認方法

Proflo His-tag quick test は、金粒子を結合した His-tag 特異的な抗体（キャプチャ抗体複合体）と、テストラインに固定化した His-tag タンパク質、コントロールラインにコントロール抗体を用いています。テストストリップにサンプルをアプライ後、キャプチャ抗体複合体がサンプル中の His-tag タンパク質に結合し、毛細管現象によりメンブレン上を移動します。サンプル中の His-tag タンパク質と結合していないキャプチャ抗体複合体は、テストライン上に固定化された His-tag タンパク質（テストライン）と結合するため、テストラインのシグナルは弱くなることで、サンプル中の His-tag タンパク質が含まれていることを確認できます。

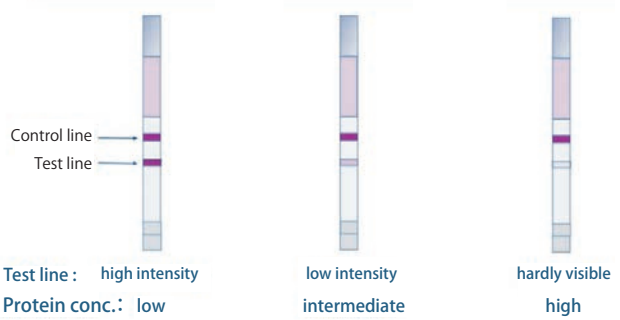


図 2　結果の確認方法
①テストラインのシグナル：強（high intensity）
⇒サンプル中に His-tag タンパク質が不含
②テストラインのシグナル：ほとんど見えない（hardly visible）
⇒サンプル中に His-tag タンパク質が多く含まれている

※コントロールラインは、試験が正常に行われた場合、サンプルの His-tag 量に依存せず、常に強いシグナルで検出されます。

[Progen Biotechnik GmbH　メーカー略号：PGN]

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
proflo His-tag quick test	PRLFHIS	25 tests	¥22,000	❄

▶▶▶ その他

タンパク質発現用プラスミド&ウイルスベクターのメーカー紹介

Cell Biolabs 社

CELL BIOLABS, INC.
Creating Solutions for Life Science Research

[Cell Biolabs, Inc.　メーカー略号：CBL]

Cell Biolabs 社では、タンパク質発現研究の一助となる、様々なウイルス発現研究のツールを取り扱っています。 記事 ID 14818 検索

アデノ随伴ウイルス（AAV） 記事 ID 6058 検索

取扱商品例
- ●ヘルパーフリー発現システム
- ●ヘルパーフリーパッケージングシステム
- ●発現 & コントロールベクター
- ●パッケージング細胞（293AAV、下記参照）
- ●その他ウイルス精製・定量・タイター測定・遺伝子導入キットなど

アデノウイルス

取扱商品例
- ●ウイルス発現システム（RAPAd®、記事 ID 2234 検索）
- ●パッケージング細胞（293AD、下記参照）
- ●その他ウイルス精製・定量・タイター測定・遺伝子導入キットなど

レンチウイルス 記事 ID 4108 検索

取扱商品例
- ●ウイルス発現システム&ベクター（ViraSafe™ シリーズ）
- ●パッケージングシステム（ViraSafe™）
- ●パッケージング細胞（293LTV、下記参照）
- ●その他ウイルス精製・定量・タイター測定・遺伝子導入キットなど

レトロウイルス 記事 ID 3824 検索

取扱商品例
- ●ウイルス発現システム（Platinum）
- ●クローニング&発現ベクター
- ●パッケージング細胞（Platinum シリーズ、293RTV、下記参照）
- ●その他 pMXs / pMYs ベクター、ウイルス精製・定量・タイター測定・遺伝子導入キットなど

パッケージング細胞のご紹介

アデノ随伴ウイルスによる遺伝子導入に

293AAV 細胞株（品番：AAV-100）

HEK293 細胞株由来で、表面積が広く平らな形状で培養プレートにより強く接着します。その結果、AAV を高収量で得ることができます。

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
293AAV Cell Line	AAV-100	1 vial	¥79,000	凍

アデノウイルスによる遺伝子導入に

293AD 細胞株（品番：AD-100）

HEK293 細胞株由来で、アデノウイルス用に選択されています。培養プレートへの安定結合や優れた導入効率、より早い増殖能を持つといった特長があります。

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
293AD Cell Line	AD-100	1 vial	¥71,000	凍

レンチウイルスによる遺伝子導入に

293LTV 細胞株（品番：LTV-100）

HEK293 細胞株由来で、レンチウイルス用に選択されています。293T 細胞株に比べ、高レンチウイルス収率や培養プレートへの安定結合、より早い増殖能を持つといった特長があります。

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
293LTV Cell Line	LTV-100	1 vial	¥79,000	凍

レトロウイルスによる遺伝子導入に

Platinum シリーズ（品番：RV-101 ～ RV-103） 記事 ID 3817 検索

レトロウイルスのパッケージングに従来用いられる細胞は、不安定でウイルス収量が比較的少ないという難点がありました。これは、細胞内のレトロウイルス構造タンパク質（gag、pol、env）の発現量が少ないためです。

Platinum 細胞シリーズは長期間安定で、レトロウイルスの構造タンパク質を高収率で産生します。Platinum-E 細胞は 293T 細胞由来で ecotropic なエンベロープタンパク質を持っています。また、Platinum-A（amphotropic）、Platinum-GP（pantropic）タイプもございます。

293RTV 細胞株（品番：RV-100）

HEK293 細胞株由来で、レトロウイルス用に選択されています。培養プレートへの安定結合やより早い増殖能、RTV をより高収量で得られるといった特長があります。

品名	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Platinum-E Retroviral Packaging Cell Line, Ecotropic	RV-101	1 vial	¥150,000	凍
Platinum-A Retroviral Packaging Cell Line, Amphotropic	RV-102	1 vial	¥150,000	凍
Platinum-GP Retroviral Packaging Cell Line, Pantropic	RV-103	1 vial	¥150,000	凍
293RTV Cell Line	RV-100	1 vial	¥79,000	凍

GeneCopoeia 社

GeneCopoeia™ Expressway to Discovery

［GeneCopoeia, Inc.　メーカー略号：GCP］

GeneCopoeia 社は 1999 年に設立された米国を拠点とする機能ゲノミクス企業であり、ゲノミクス、プロテオミクス、分子生物学および細胞生物学向けの最先端の製品とサービスを開発しています。学術研究における生物・医学研究者のニーズと、医薬品および診断製品の研究開発のニーズを満たすため、革新的な研究開発を続け、高品質な商品を供給しています。

おすすめ商品

ヒトとマウスのゲノムの広範囲を網羅する、ORF クローンの最大のコレクションです。すべての ORF は、様々な融合タグ（蛍光色素や抗体との融合タグ、溶解性を上げるタグ、精製済みまたはタグなし）や、プロモーター、選択マーカーと組み合わせて簡単に発現できるため、様々な宿主システムで簡単に発現できます。

●OmicsLink™ Expression-Ready ORF cDNA Clone
記事 ID 7398 検索

OrigGene Technologies 社

ORIGENE Your Gene Company

［OriGene Technologies, Inc.　メーカー略号：ORG］

OriGene Technologies 社は、研究ツールとしての大規模な完全長ヒト cDNA コレクションを市場に提供する会社として設立されました。完全なヒトゲノム配列の可能性が広がってゲノムベースのツール開発が進み、創薬ターゲットの特定が可能になった中で、OriGene 社は生体内のパスウェイを研究するための包括的でゲノムワイドな研究ツールとテクノロジープラットフォームを提供し、研究者ががんや幹細胞研究を含む疾患メカニズムを追求する手助けをすることを目指しています。

おすすめ商品

哺乳類細胞へのトランスフェクションの準備済みの発現プラスミドの大規模なコレクションです。ヒト（100,000）、マウス（300,000）、ラット（150,000）、ウイルス（2,300）と、ゲノムワイドなカバレッジをほこります。

cDNA クローンは、下記のブランドの哺乳類発現ベクターを用意しています。

●TrueClone® - タグなし cDNA クローン
記事 ID 3417 検索

●TrueORF® - タグ付き ORF クローン（Myc-DDK tag or GFP tag）
記事 ID 3410 検索

●TrueORF Gold - 発現バリデーション済み
記事 ID 7396 検索

●Lenti-ORF - レンチウイルスの ORF クローン（Myc-DDK tag or mGFP tag）

●Viral ORF - その他ウイルスの ORF クローン（Myc-DDK tag）
記事 ID 11537 検索

SignaGen® Laboratories 社

[SignaGen Laboratories　メーカー略号：SGL]

遺伝子デリバリーツールの開発、製造を行う 2008 年設立のアメリカの会社です。独自に開発した DNA / RNA トランスフェクション試薬や、アデノウイルス発現システム、アデノ随伴ウイルスパッケージングシステム、レンチウイルスパッケージングシステム等のウイルス粒子関連製品の販売、各種ウイルス作製の受託サービスを提供しています。科学論文での引用文献数は 6,000 件を超えています。

おすすめ商品

- ●パッケージング済みアデノウイルス粒子（Pre-packaged Adenovirus）　記事 ID 11509 検索
- ●パッケージング済みアデノ随伴ウイルス粒子（Pre-packaged Adeno-associated virus）　記事 ID 42995 検索
- ●パッケージング済みレンチウイルス粒子（Pre-packaged Lentivirus）　記事 ID 42996 検索
- ●*in vivo* 用トランスフェクション試薬 GenJet™ Plus / PepJet™　記事 ID 14392 検索
- ●*in vitro* 用トランスフェクション試薬 GenJet™ / PolyJet™　記事 ID 3831 検索

Vector Biolabs 社

[Vector BioLabs　メーカー略号：VBL]

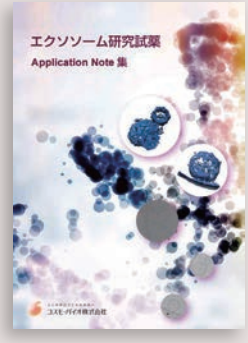
独自技術を用いた強力な遺伝子デリバリーの開発に注力している 2004 年設立のアメリカの会社です。現在に至るまで、25 ヵ国以上の国の数百の施設と協力して、アデノウイルスとアデノ随伴ウイルスのウイルスベクター製品を提供してきました。1,000 を超える査読論文にて引用されています。

おすすめ商品

Vector Biolabs 社では、ヒト、マウス、ラット遺伝子に対する過剰発現やサイレンシング関連のウイルス粒子を販売しており、アデノウイルス粒子製品は約 85,000 点、アデノ随伴ウイルス粒子製品は約 62,000 点取り揃えています。これらのウイルス粒子製品には、蛍光レポーターや Cre/ 蛍光タンパク質のリコンビナーゼ、CRISPR/Cas9 タンパク質などのが含まれています。

カタログ品では、CMV または U6 プロモーターのベクターをご用意しておりますが、お客様のご希望に応じて、カスタマイズも承っています。

神経研究ハンドブック



エクソソーム研究用試薬
アプリケーションノート集

グライコバイオロジー
ハンドブック第 3 版

RNAi ハンドブック
第 3 版

ゲノム編集ハンドブック
第 3 版

好評配布中！

コスモ・バイオのハンドブック

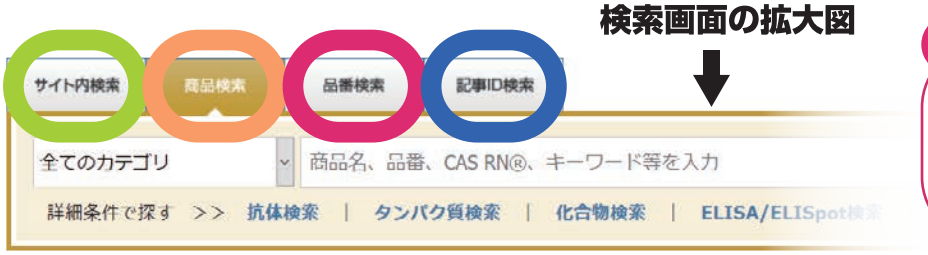
ウェブサイトからカタログ送付依頼【無料】ができます！
www.cosmobio.co.jp

Web 検索案内

記事 ID 検索

直接 WEB サイト内の記事へ。
カタログでは紹介しきれない情報も手に入ります。

検索画面の拡大図



品番検索

品番のみでシンプルに検索

・最大で 10 品番を同時検索
・メーカー指定もできます。

サイト内検索

WEB サイト内 にお探しの情報があるかをキーワードで検索。
商品検索とは異なります。

商品検索

商品名、品番、CAS RN®、キーワード等を入力して検索。
より条件を絞っての検索には、「抗体」、「タンパク質」、「化合物」、「ELISA / ELISpot」、「一般検索」の **カテゴリ特化検索** をご活用ください。

ご注文に際してのお願い

メーカー略号	メーカー名
AJI	味の素ヘルシーサプライ株式会社
AVI	Avidity.LLC
CBL	Cell Biolabs, Inc.
CET	Cellular Engineering Technologies, Inc.
CLI	Cell Lines Service
DNA	ATUM
ENZ	Enzo Life Sciences,Inc.
GEN	Genlantis, A division of Gene Therapy Systems, Inc.
GFK	ジーンフロンティア株式会社
GMB	BioElegen Technology Co., Ltd
JNA	JENA BIOSCIENCE GMBH
KAL	医化学創薬株式会社
LNO	LenioBio GmbH
LUC	Lucigen Corporation
OET	Oxford Expression Technologies
PGI	Proteintech Group, Inc.
PGN	Progen Biotechnik GmbH
PRX	株式会社プロテイン・エクスプレス
RKL	Rockland Immunochemicals, Inc.
SMO	SMOBIO TECHNOLOGY, INC.

コスモ・バイオでは、取扱メーカーをすべてメーカー略号を用いて注文しやすくしています。同様の品番を複数メーカーで用いている場合がございますので、ご注文時には品番だけでなく品名や包装サイズ、メーカー略号もしくはメーカー名のご確認をお願いいたします。弊社取り扱い代理店経由でご注文ください。

室	室温保存
冷	4℃保存
凍	–20℃保存
凍	–70℃保存

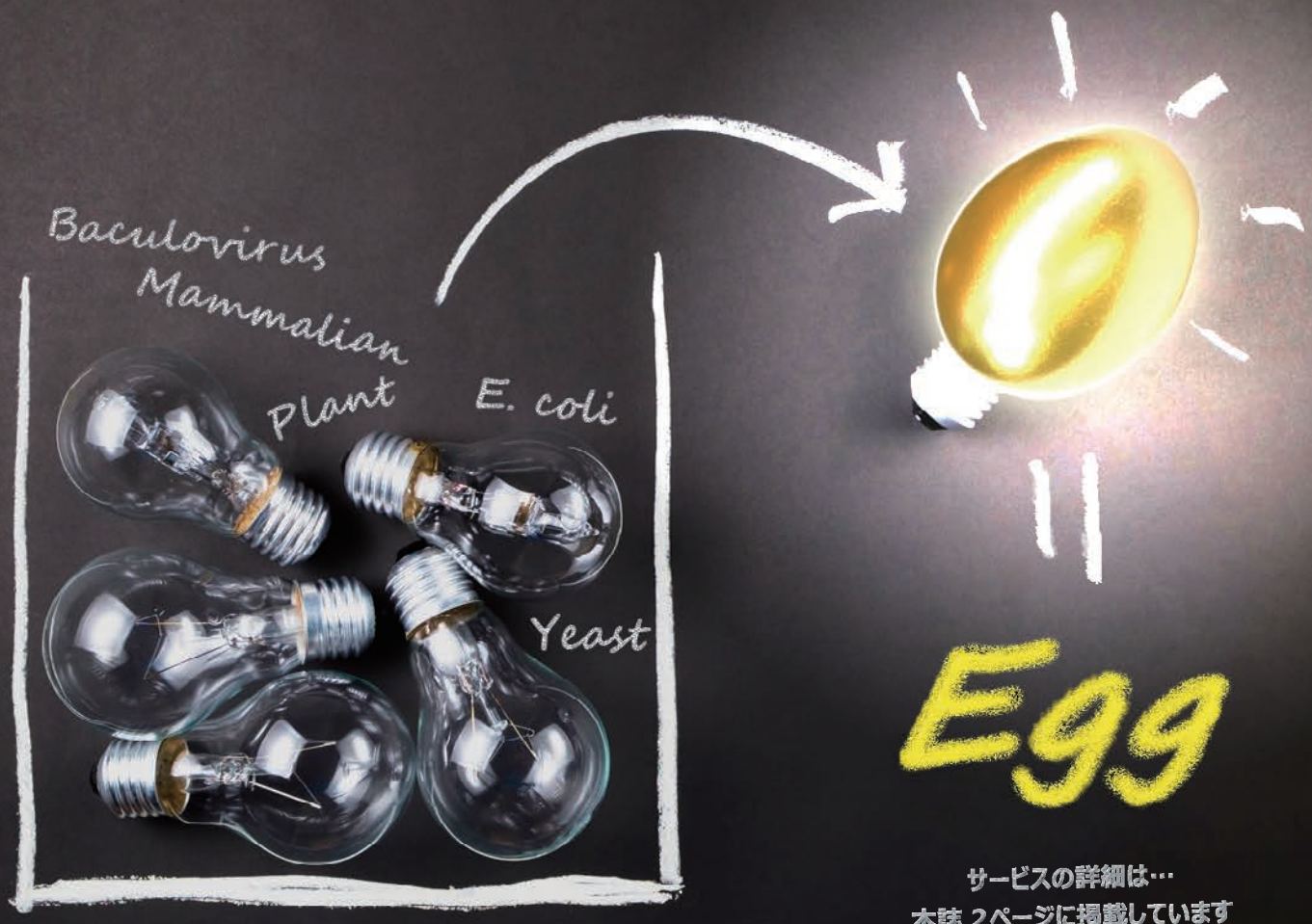
営業部お問い合わせ先

TEL : 03-5632-9610
FAX : 03-5632-9619
E-mail：mail@cosmobio.co.jp

弊社の Web 経由でもお問い合わせいただけます。
Web：https://www.cosmobio.co.jp/ask/contact.asp

Kg スケールでも対応が可能です。

鶏卵バイオリアクターを用いた
組換えタンパク質大量生産受託サービス



サービスの詳細は…
本誌 2ページに掲載しています

※本事業は、国立研究開発法人 産業技術総合研究所、C4U 株式会社からライセンスを受けて実施しております。

取扱店

お願い / 注意事項

記載の社名･商品名等の名称は、弊社または各社の商標または登録商標です。

希望販売価格 記載の希望販売価格は 2021 年 11 月 1 日現在の価格で、予告なく改定される場合があります。また、「希望販売価格」「 キャンペーン中の参考価格」は参考価格であり、販売店様からの実際の販売価格ではございません。ご注文の際には販売店様へご確認くださいますようお願い申し上げます。表示価格に消費税は含まれておりません。

使用範囲 記載の商品およびサービスは全て、「研究用」です。人や動物の医療用・臨床診断用・食品用等としては使用しないよう、十分ご注意ください。

人と科学のステキな未来へ
コスモ･バイオ株式会社

— 商品の価格・在庫・納期に関するお問い合わせ
TEL: 03-5632-9630（受付時間 9:00 〜 17:30）
FAX: 03-5632-9623

— 商品に関するお問い合わせ
TEL: 03-5632-9610（受付時間 9:00 〜 17:30）
FAX: 03-5632-9619

本社所在地　〒135-0016　東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル

https://www.cosmobio.co.jp/