



(微細藻類由来)

# 安定同位体標識バイオケミカル

Stable Isotope Labeled Bio-Chemicals  
from Micro Algae

 **クロレラ工業株式会社**

技術特販部

〒833-0056 福岡県筑後市久富1343

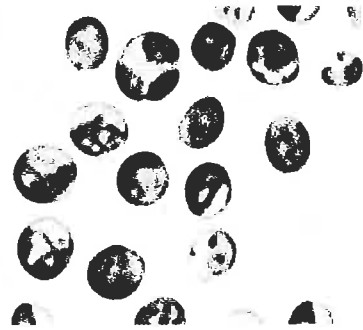
TEL 0942-52-1261 FAX 0942-51-7203

E-mail: gijutsutokuhan@chlorella.co.jp

## 背景

## Background

クロレウ工業は、微細藻類の生産から商品化までを一貫して行っている国内唯一の専門メーカーです。微細藻類の培養技術を生かし、種々安定同位体標識化合物の国産化に成功しました。タンパク質の構造解析や、代謝研究にご利用ください。



## 製造法

## Manufacturing

標識原料として $^{13}\text{C}$ -炭酸ガスや $^{15}\text{N}$ -無機塩、 $^2\text{H}$ -重水などを用いて微細藻類を光合成培養します。種々の標識原料を組合わせて培養した藻体から、グルコースやアミノ酸などの有用な標識化合物を抽出・精製します。

## 商品群

## Algal Products

- ・ グルコース： $(^{13}\text{C})$ -Glucose,  $(^2\text{H})$ -Glucose,  $(^{13}\text{C}, ^2\text{H})$ -Glucose
- ・ アミノ酸混合物： $(^{15}\text{N})$ -Algal Amino Acid Mix, -16AA  
 $(^{13}\text{C}, ^{15}\text{N})$ -Algal Amino Acid Mix, -16AA  
 $(^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}, ^2\text{H})$ -Algal Amino Acid Mix, -16AA  
 $(^{15}\text{N}, ^2\text{H})$ -Algal Amino Acid Mix, -16AA  
 $(^{15}\text{N})$ -Algal Amino Acid Mix, -20AA  
 $(^{13}\text{C}, ^{15}\text{N})$ -Algal Amino Acid Mix, -20AA
- ・ 大腸菌用標識培地： $(^{15}\text{N})$ -C.H.L. Medium,  $(^{13}\text{C}, ^{15}\text{N})$ -C.H.L. Medium  
 $(^{15}\text{N})$ -C.H.L.-M9 Medium,  $(^{13}\text{C}, ^{15}\text{N})$ -C.H.L.-M9 Medium  
 $(^2\text{H})$ -C.H.L.-d Medium,  $(^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}, ^2\text{H})$ -C.H.L.-d Medium,  
 $(^{15}\text{N}, ^2\text{H})$ -C.H.L.-d Medium
- ・ 脂肪混合物： $(^{13}\text{C})$ -Algal Lipid Mix,
- ・ 脂肪酸混合物： $(^{13}\text{C})$ -Algal Fatty Acid Mix,
- ・ デンプン： $(^{13}\text{C})$ -Algal Starch
- ・ ユビキチン： $(^{15}\text{N})$ -Chlorella Ubiquitin,  
 $(^{13}\text{C}, ^{15}\text{N})$ -Chlorella Ubiquitin

※上記以外のカスタム試薬類も承っています。



安定同位体標識

# 藻類アミノ酸混合物 (16AA)

## Algal Amino Acid Mixture

種々の安定同位体を組み合わせた標識培地で培養した微細藻類クロレウを、脱脂・脱糖した後、加水分解し、カラムクロマトグラフィーにより精製した遊離アミノ酸の混合物です。凍結乾燥した淡黄色の粉末で、酸分解されない16種類のアミノ酸を含んでいます。無細胞系での標識蛋白質の製造や、代謝研究にご利用ください。

・アミノ酸組成

### Amino Acid Composition(% of total AA)

Asp	8 -12	Tyr	1 - 3
Glu	10-15	Val	6 - 8
Ser	3 - 5	Met	1 - 3
Gly	5 - 9	Cys	n.d
His	1 - 4	Ile	4 - 6
Thr	4 - 6	Leu	8 -12
Ala	4 -11	Phe	2 - 5
Pro	4 - 6	Trp	n.d
Arg	2 - 7	Lys	6 -14

・標識：non-,  $^{13}\text{C}$ -,  $^{15}\text{N}$ -,  $^2\text{H}$ -, ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) -, ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^2\text{H}$ ) -label

・純度：Free Amino Acid:90-98%

Isotope enrichment:97-99 atom%

・保存：吸湿性が高いため、デシケータに保存し、早めに使い切って下さい。

## セルフリー系用

安定同位体標識

# アミノ酸混合物 (20AA)

## Amino Acid Mixture(20AA)

安定同位体標識培地で培養した微細藻類クロレウを、加水分解して得られる遊離アミノ酸に不足する4種類のアミノ酸 (Asn,Gln,Cys,Trp) を加えました。蛋白質の合成に必要な20種類全てのアミノ酸を含んでおり、無細胞系での標識蛋白質の製造にご利用いただけます。

### ・アミノ酸組成

#### Amino Acid Composition(% of total AA)

Asp	8 -12	Arg	2 - 7
Asn	1 - 3	Tyr	1 - 3
Glu	10-15	Val	6 - 8
Gln	1 - 3	Met	1 - 3
Ser	3 - 5	Cys	1 - 3
Gly	5 - 9	Ile	4 - 6
His	1 - 4	Leu	8 -12
Thr	4 - 6	Phe	2 - 5
Ala	4 -11	Trp	1 - 3
Pro	4 - 6	Lys	6 -14

- ・ 標識 :  $^{15}\text{N}$ -label, ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) -label
- ・ 純度 : Free Amino Acid:90-98%  
Isotope enrichment:97-99 atom%
- ・ 保存 : 吸湿性が高いため、デシケータに保存し、早めを使い切って下さい。

(<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N) – 標識

# C.H.L.培地 (大腸菌用)

大腸菌 (BL-21株) によるタンパク質発現系を用いた、安定同位体標識タンパクの大量調製用を開発した培地です。

M9基礎培地に藻類加水分解物を加えたことで、良好な菌体増殖が得られます。さらに別添のアミノ酸混合物を効果的に添加することで、より大量のタンパク質の発現が見込めます。

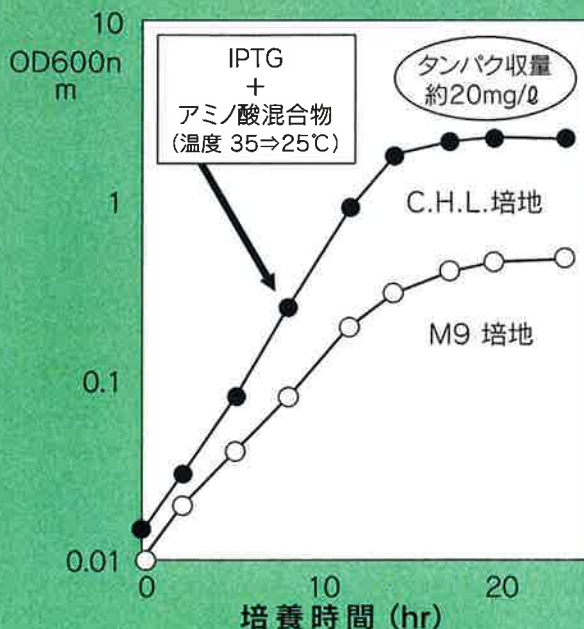
## 【使用例】

- ▶ 培養液 (×10) : 10倍濃縮の培地をろ過滅菌しています。無菌室にて予め別添の硫酸マグネシウムを溶解させた滅菌水で1 ℓに希釈してお使い下さい。(更なる加熱滅菌やフィルター滅菌は避けて下さい)
- ▶ 別添のアミノ酸混合物は、IPTGでの発現誘導時に適量の水に溶かして加えて下さい。
- ▶ 保存の際は、常温で保存して下さい。

## 【濃縮培地組成 100ml中】 (培養液 1 ℓ分)

グルコース	1.5 g	塩化ナトリウム	0.5 g
藻類加水分解物	0.5 g	塩化アンモニウム	1.0 g
リン酸二ナトリウム	6.0 g	硫酸マグネシウム七水和物(別添)	0.25 g
リン酸一カリウム	3.0 g	アミノ酸混合物(別添)	0.5 g

## Chlorella Ubiquitin発現系を組み込んだ E.coli(BL-21株)培養例



## 【アミノ酸組成 (例)】

Asp	13%	Tyr	1%
Glu	14%	Val	8%
Ser	5%	Met	3%
Gly	7%	Cys	n.d
His	1%	Ile	5%
Thr	6%	Leu	10%
Ala	10%	Phe	2%
Pro	6%	Trp	n.d
Arg	1%	Lys	9%



## 重水素標識用

(<sup>2</sup>H)-, (<sup>15</sup>N, <sup>2</sup>H)-, (<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N, <sup>2</sup>H)- 標識

# C.H.L.-d培地 (大腸菌用)

大腸菌 (BL-21株) によるタンパク質発現系を用いた、重水素標識タンパクの大量調製用培地です。重水素標識藻類加水分解物に、大腸菌の生育に必要な無機塩類を加えたもので、すぐにご使用いただけます。また、アミノ酸混合物を別添しており、タンパク質の発現誘導時に添加することで、より多くのタンパク質の発現が見込めます。

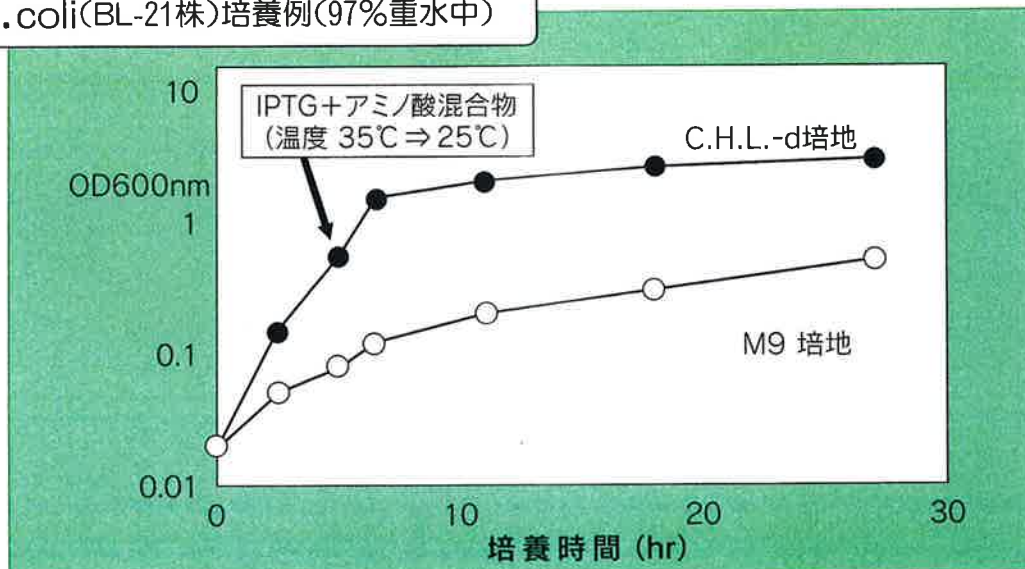
### 【使用例】

- ▶ 重水濃度97%の滅菌済みの濃縮培養液です。そのまま無菌的に培養容器に移したのち、予め別添の硫酸マグネシウムを溶解させた希釈用重水をろ過滅菌後添加して1 ℓに調整してご使用ください。(更なる加熱滅菌やフィルター滅菌は避けて下さい)
- ▶ 別添の滅菌済みのアミノ酸混合液は、IPTGでの発現誘導時に加えて下さい。
- ▶ 保存の際は、常温保存してください。
- ▶ 予め、お手持ちの大腸菌が重水中で生育・発現することを確認してください。

### 【濃縮培地組成 100ml中】(培養液1 ℓ分)

藻類加水分解物	2.0 g	塩化ナトリウム	0.5 g
┌ グルコースとして	0.6 g	重水(97%)	100ml
└ アミノ酸として	1.4 g	.....	.....
塩化アンモニウム	0.5 g	硫酸マグネシウム(無水、別添)	0.12 g
リン酸二ナトリウム	2.0 g	アミノ酸混合物(10ml重水に溶解、別添)	0.5 g
リン酸一カリウム	1.0 g		

### E. coli(BL-21株)培養例(97%重水中)



<sup>13</sup>C-標識

# 藻類脂肪混合物

Algal Lipid Mixture

(Algal Neutral Lipid Mix./Algal Fatty Acid Mix.)

<sup>13</sup>Cで標識した微細藻類から有機溶媒で抽出して得た脂質画分を、さらに分画・精製した「中性脂肪混合物」、および、中性脂肪を酸加水分解して得た「脂肪酸混合物」があります。

パルミチン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸を多く含み、一般の植物油に近い脂肪酸組成をしています。 代謝研究等にご利用ください。

・脂肪酸組成

---

## Fatty Acid Composition(% of total FA)

---

Palmitic acid	16:0	15-25
Palmitoleic acid	16:1	0-5
Palmitolenic acid	16:2	5-10
Hexadecatrienoic acid	16:3	5-10
Stearic acid	18:0	5-15
Oleic acid	18:1	15-25
Linoleic acid	18:2	20-30
Linolenic acid	18:3	10-25
unknown	—	0-5

---

・純度 : Isotope enrichment : 97-99 atom%  
Carbon content : 71-72%

・保存法 : 冷凍保存

## 安定同位体標識

# クロレラ ユビキチン

( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ )-Chlorella Ubiquitin, ( $^{15}\text{N}$ )-Chlorella Ubiquitin

安定同位体標識クロレラユビキチンは、遺伝子組み換えした大腸菌を安定同位体標識培地 (C.H.L. 培地) で培養しタンパクを発現させた後、イオン交換樹脂により分離精製したものです。

### 【アミノ酸配列】

MQIFVKLTG KTITLEVESS DTIENVKAKI QDKEGIPPDQ QRLIFAGKQL  
EDGRTLADYN IQKESTLHLV LRLRGG (76残基, 分子量: 約8500, His-tagは付いて  
いません。)

### 他生物由来のUbiquitinとの比較

	10	20	30	40	50	60	70	76
Chlorella	MQIFVKLTG	KTITLEVESS	DTIENVKAKI	QDKEGIPPDQ	QRLIFAGKQL	EDGRTLADYN	IQKESTLHLV	LRLRGG
human	MQIFVKLTG	KTITLEVEPS	DTIENVKAKI	QDKEGIPPDQ	QRLIFAGKQL	EDGRTLSDYN	IQKESTLHLV	LRLRGG
Saccharomyces	MQIFVKLTG	KTITLEVESS	DTIDNVKSKI	QDKEGIPPDQ	QRLIFAGKQL	EDGRTLSDYN	IQKESTLHLV	LRLRGG
Tetrahymena	MQIFVKLTG	KTITLEVEAS	DTIENVKAKI	QDKEGIPPDQ	QRLIFAGKQL	EDGRTLSDYN	IQKESTLHLV	LRLRGG
Soybean	MQIFVKLTG	KTITLEVESS	DTIDNVKAKI	QDKEGIPPDQ	QRLIFAGKQL	EDGRTLADYN	IQKESTLHLV	LRLRGG

### 【商品形態】

凍結乾燥物: 5mg, 10mg

溶 液: 1mM, in 50mM K-Phosphate buffer (pH 5.8), (90%-H<sub>2</sub>O/10%-D<sub>2</sub>O)  
NMR Sample tube (例: Wilmad 535-PP-8)

### 【製品規格】

タンパク質純度: SDS-PAGE後、CBB染色により単一バンドを確認

タンパク質濃度: Advanced Protein Assay Reagentを用いて測定

安定同位体純度:  $^{13}\text{C}$ : ~98 atom%,  $^{15}\text{N}$ : ~98 atom%

### 【保存方法】

凍結乾燥物は-20°C保存。溶液は冷蔵保存。