Ver. 0 (KR) 2021-05-03

효율적인
재조합 단백질 연구를 위한
Product Guide

BIONEER
Innovation • Value • Discovery

8-11 Munpyeongseo-ro, Daedeok-gu, Daejeon 34302 Republic of Korea
Tel: (Korea) 1588-9788 (International) +82-42-930-8777 Email: proteinorder@bioneer.co.kr

Selection Guide I

E.coli **Cell-free** protein expression & purification

Step 1 Template DNA 준비 → **Step 2** 단백질 발현 & 정제

Case 1

E. coli expression vector
(ex) pET series)
형태로 유전자를 가지고 있는 경우

Case 2

cDNA, gDNA 또는 PCR Product
형태로 유전자를 갖고 있는 경우

Plasmid DNA

- pBIVT Vector Set-1
- Cloning Service

OR

Linear DNA(PCR Product)

- *ExiProgen*™ ProXpress PCR Template Kit
- *ExiProgen*™ Protein Expression Optimization Kit

Case 3

유전자 또는 아미노산 서열만
알고 있는 경우

Plasmid DNA

Gene Synthesis Service &
Cloning Service

OR

Linear DNA(PCR Product)

Cloning-free
Gene Synthesis Service

Template DNA 준비 완료

***ExiProgen*™ 장비 유무**

YES

NO

Protein Synthesis Service

Automatic type 단백질 합성 및 투석

다수의 단백질 합성여부를 동시에 확인하고자 할 때	*ExiProgen*™ EC Protein Synthesis Kit
1 mg 이상의 단백질을 손쉽게 얻고 싶을 때	*ExiProgen*™ EC-Maxi Protein Synthesis Kit
10 mg 이상의 단백질을 손쉽게 얻고 싶을 때	*ExiProgen*™ EC-Bulk Protein Synthesis Kit
His-tag이 제거된 원형의 단백질을 얻고자 할 때	*ExiProgen*™ EC-Tagfree Protein Synthesis Kit
Disulfide bond를 가지고 있는 단백질을 얻고자 할때	*ExiProgen*™ EC-Disulfide Protein Synthesis Kit
정제 시료의 buffer change를 하고자 할 때	*ExiProgen*™ Dialysis Kit

Manual type 단백질 발현 & 정제

단백질 발현 여부만 확인하고자 할 때	*AccuRapid*™ Cell-Free/Midi/Maxi Protein Expression Kit
단백질 발현부터 정제까지 하고자 할 때	*AccuRapid*™ Protein Synthesis Kit

*마지막 페이지에서 제품 카탈로그 번호를 확인하실 수 있습니다.

Selection Guide II

E.coli **Cell-based** protein expression & purification

Step 1 Template DNA 준비 → **Step 2** 단백질 발현 시료 준비 → **Step 3** 단백질 정제

Case 1
E. coli expression vector
(ex) pET series)
형태로 유전자를 가지고 있는 경우

Case 2
cDNA, gDNA 또는 PCR Product
형태로 유전자를 갖고 있는 경우

Case 3
유전자 또는 아미노산 서열만
알고 있는 경우

Plasmid DNA
- *AccuRapid*™ Cloning Kit
- Cloning Service

Plasmid DNA
Gene Synthesis Service &
Cloning Service

Template DNA 준비 완료

단백질 발현 균주 확보

단백질이 발현된 세포 추출물 준비

***ExiProgen*™ 장비 유무**

YES

Automatic type 단백질 정제 및 투석

His-tag이 있는 목적단백질을 정제하고자 할때	*ExiProgen*™ His-tagged Protein Purification Kit
MagListo™ Protein G/A/L Kit를 자동화로 사용하고자 할때 (매뉴얼 키트와 함께 사용)	*ExiProgen*™ Consumable SET
정제 시료의 buffer change를 하고자 할 때	*ExiProgen*™ Dialysis Kit

NO

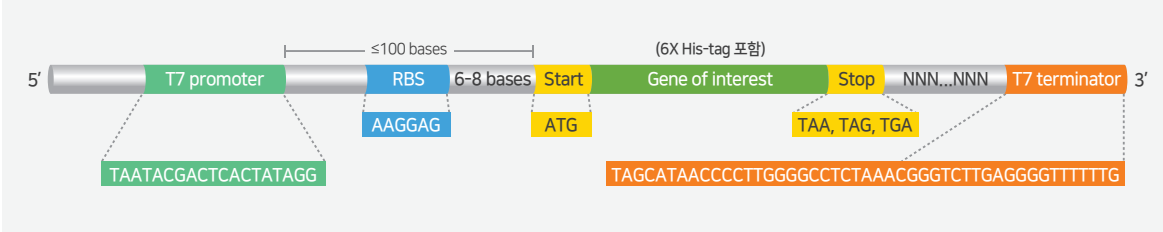
Manual type 단백질 정제

His-tag이 있는 목적단백질을 정제하고자 할때	*MagListo*™ His-tagged Protein Purification Kit
Antibody fragment 정제를 하고자 할 때	*MagListo*™ Protein G/A/L Kit

*마지막 페이지에서 제품 카탈로그 번호를 확인하실 수 있습니다.

1 Template DNA 준비 가이드

단백질 발현용 Template DNA 구조 및 준비



무세포 단백질 발현용 template DNA 로는 plasmid DNA나 PCR product를 사용할 수 있습니다. Template DNA는 위 그림과 같이 "T7 promoter - Ribosome binding site - Target gene (6x His-tag sequence포함) - T7 terminator"의 구조를 가지고 있어야 합니다. 또한, target gene은 start codon과 stop codon을 가지고 있어야 하며, 정제를 위하여 5'말단 또는 3'말단에 6x His-tag를 가지고 있어야 합니다.

Cell-free protein expression 전용 template DNA 제작 키트

Linear DNA
PCR product

Plasmid DNA

☑ 클로닝 없이 **2번의 PCR 반응**을 통해 제작

ExiProgen™ ProXpress PCR Template Kit (Cat. No. K-7400)

☑ 단백질 발현 최적화 template 제작

ExiProgen™ Protein Expression Optimization Kit (Cat. No. K-7410)

☑ T7 발현 벡터에 클로닝하여 제작

pBIVT Vector Set-1 (Cat. No. K-7350)

☑ 서비스로 간편하게 제작

Gene Cloning Service (Cat. No. S-6010)

NEW

ExiProgen™ Protein Expression Optimization Kit

☑ 단백질 발현 효율을 높여줄 수 있는 서열을 도입한 template DNA 제작
☑ 발현이 안되거나 발현양이 적은 단백질에 보다 효과적

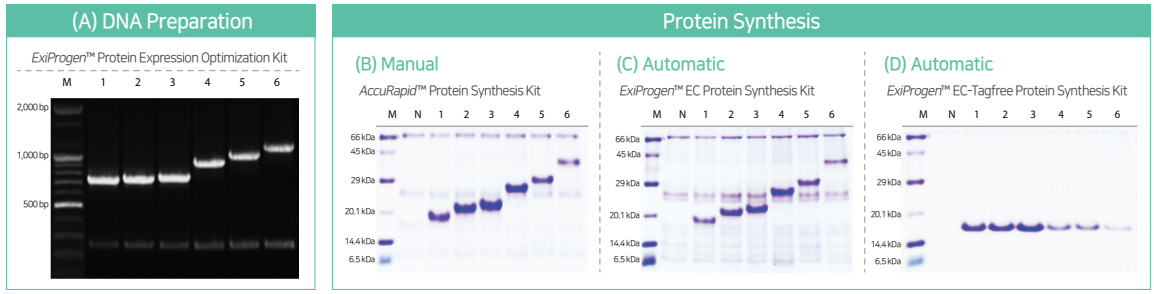
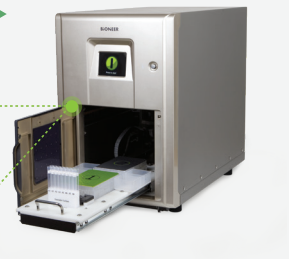


Figure 1. Template DNA construction and protein synthesis data for the control DNA.
Each linear template DNA was generated by using *ExiProgen*™ Protein Expression Optimization Kit. The linear template DNA was used as templates for protein synthesis with our various protein synthesis kits. Length of the control DNA is 462 bp and molecular weight of the control protein is 18 kDa.
Data (A): 2nd PCR products using the 1% agarose gel image
Data (B-D): Each protein was synthesized using 1 μg of DNA and 22.5 μl of the purified protein was loaded on 12% SDS-PAGE gel.
(Lane N: No tagged samples, Lane 1-6: tag 1-6 inserted samples.)

2 단백질 합성&정제 가이드 (Automatic&Manual)

Automatic Type I *ExiProgen*™ (전자동 단백질 합성 및 정제 장비)

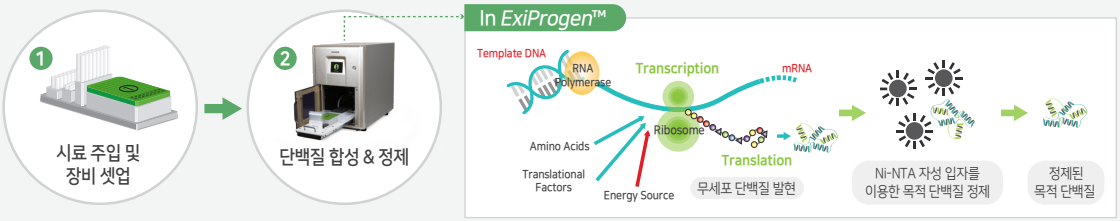
Cell-free protein expression + **Affinity Purification**



Automatic Protein Synthesizer
전용 키트를 이용하여 6시간 이내에 자동으로 단백질 합성

Automatic Protein Purifier
실리카 자성 입자를 사용하여 목적 단백질 또는 항체 정제

- ☑ Template DNA를 카트리지에 넣어준 후, *ExiProgen*™에 장착하여 가동시키면 전자동으로 단백질 합성 및 정제 완료
- ☑ 기존의 *in vivo* 방식으로 발현이 어려웠던 세포 독성 단백질, 막단백질 등의 고난이도 발현 단백질도 합성 가능
- ☑ 자동화 장비의 최적화된 프로토콜로 재현성있게 단백질 획득 가능



ExiProgen™을 이용한 전자동 재조합 단백질 합성 키트

ExiProgen™ EC Protein Synthesis Kit

- ☑ 1~16종의 단백질 동시에 합성, 정제 가능
- ☑ 각 단백질을 최대 100 μg/rxn 내외로 합성 가능

ExiProgen™ EC-Tagfree Protein Synthesis Kit

- ☑ 1~8종의 단백질 동시에 합성, 정제 가능
- ☑ 단백질을 200 μg/rxn 내외로 합성 가능하며, His-tag이 제거된 형태로 단백질 획득

ExiProgen™ EC-Maxi Protein Synthesis Kit

- ☑ 1~8종의 단백질 동시에 합성, 정제 가능
- ☑ 단백질을 최대 500 μg/rxn 내외로 합성 가능

ExiProgen™ EC-Disulfide Protein Synthesis Kit

- ☑ 1~8종의 단백질 동시에 합성, 정제 가능
- ☑ 이황화결합(2~9개)을 가지고 있는 단백질을 50 μg/rxn 내외로 합성 가능

NEW

ExiProgen™ EC-Bulk Protein Synthesis Kit

- ☑ Bulk scale로 한 번에 최대 10 mg의 단백질 합성 가능
- ☑ (Application) EC Kit로 합성 스크리닝 후, 대용량이 필요한 단백질은 EC-Bulk Kit로 합성

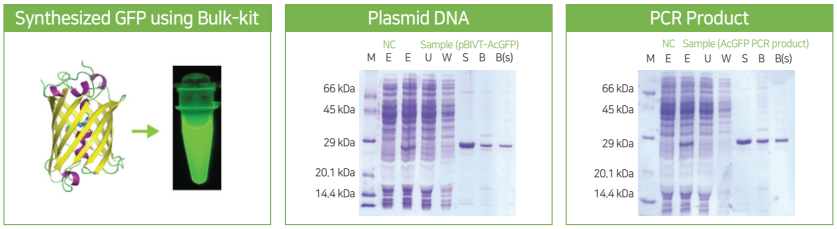


Figure 2. Positive control protein synthesis data of *ExiProgen*™ EC-Bulk Protein Synthesis Kit.
Plasmid DNA; pBIVT-AcGFP used, PCR Product; AcGFP PCR (2F/2R primer of K-7400 kit) Product used.
NC; No-DNA sample, M; *AccuLadder*™ Protein size marker (Low), E; Expression sample, U; Unbound sample, W; Washing sample, S; Storage sample, B; Bead sample, B(S); Supernatant of bead sample

ExiProgen™을 이용한 재조합 단백질 정제 및 투석 키트

ExiProgen™ His-tagged Protein Purification Kit

☑ 1~16종의 단백질 동시에 합성, 정제 가능
☑ His-tag을 가지고 있는 단백질을 고순도로 정제 가능

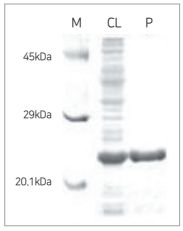


Figure 3. Purification of DUSP3 with *ExiProgen*™
- M: *AccuLadder*™ Protein Size Marker (Low),
- CL: Sample of recombinant cell lysate
- P: Sample of purification

ExiProgen™ Consumable SET

☑ 매뉴얼 항체 정제 키트인 *MagListo*™ Protein G/A/L Kit를 *ExiProgen*™ 장비에 적용할 때 사용하는 일회용 제품 SET
☑ 1~16종의 단백질 동시에 정제 가능

ExiProgen™ Dialysis Kit ★★

☑ 1~16종의 단백질 동시에 buffer 교환 가능
☑ 자동화 장비를 이용하여 저온에서 원하는 buffer로 change 가능

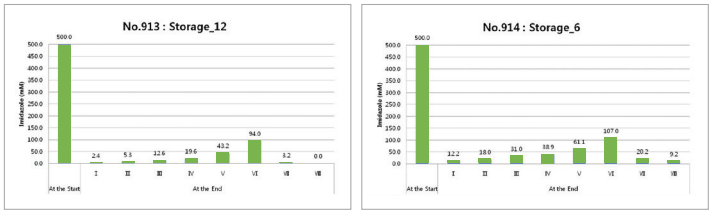


Figure 4. Comparison of dialysis efficiency according to different protocol using 500 mM imidazole.

Ⅰ: 50 mM Tris-Cl (pH7.6), 100 mM NaCl, 0.2 mM EDTA, 0.05% NaN_3
Ⅱ: 50 mM Tris-Cl (pH7.6), 100 mM NaCl, 0.2 mM EDTA, 0.05% NaN_3, 10% Glycerol
Ⅲ: 50 mM Tris-Cl (pH7.6), 100 mM NaCl, 0.2 mM EDTA, 0.05% NaN_3, 20% Glycerol
Ⅳ: 50 mM Tris-Cl (pH7.6), 100 mM NaCl, 0.2 mM EDTA, 0.05% NaN_3, 30% Glycerol
Ⅴ: 50 mM Tris-Cl (pH7.6), 100 mM NaCl, 0.2 mM EDTA, 0.05% NaN_3, 40% Glycerol
Ⅵ: 50 mM Tris-Cl (pH7.6), 100 mM NaCl, 0.2 mM EDTA, 0.05% NaN_3, 50% Glycerol
Ⅶ: PBS
Ⅷ: 100 mM HEPES (pH7.6), 100 mM NaCl, 0.2 mM EDTA, 0.05% NaN_3

관련 서비스

☑ 유전자 합성 서비스로 Template DNA 준비를 간편하게 **"Gene Synthesis Service & Cloning Service"**

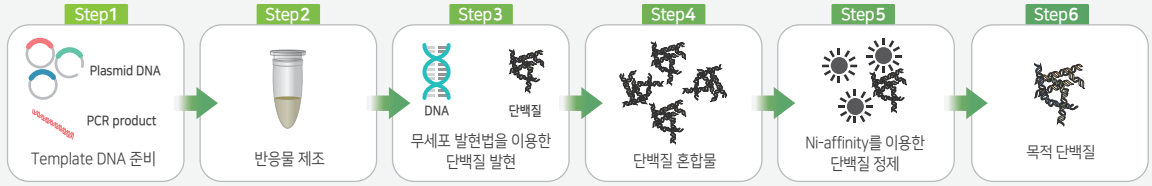
Tip! Eukaryotic gene을 무세포 단백질 발현법으로 단백질을 합성할 때 서열 특이성 때문에 *E.coli* 에서 발현이 잘 되지 않을 경우가 있습니다. 이럴 경우 동일한 유전자에 대해서 *E.coli* codon optimization을 하여 유전자 합성한 후 사용하면 단백질 합성량을 높일 수 있습니다.

☑ 단백질 합성 서비스로 목적 단백질만 손쉽게 획득! **"Standard Protein Synthesis Service"**
☑ 유전자 합성부터 단백질 합성까지 한번에 **"Gene to Protein Synthesis Service"**

Tip! 본 서비스는 *ExiProgen*™과 전자동 단백질 합성 키트를 이용하여, 합리적인 가격으로 단백질을 합성해 드리는 서비스입니다. 연구실 여건상 직접 실험을 못하시는 경우, 서비스를 통해 손쉽게 목적 단백질을 획득하실 수 있습니다.

Manual Type | *AccuRapid*™, *MagListo*™

☑ 세포를 이용하지 않고 시험관 튜브 내에서 손쉽게 단백질을 합성
☑ 기존의 *in vivo* 방식으로 발현이 어려웠던 세포 독성 단백질, 막단백질 등의 고난이도 발현 단백질도 합성 가능



매뉴얼 방식의 재조합 단백질 합성 키트

Best seller

AccuRapid™ Protein Expression Kit

☑ 무세포 단백질 발현에 필요한 *E. coli* extract와 Master mix 포함
☑ 발현용 반응액을 tube에 넣고 30℃ 에서 3시간 내에 발현
☑ (Application) Template DNA 농도에 따른 단백질의 최적 발현양을 스크리닝 할 수 있는 trial kit

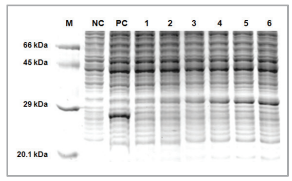


Figure 5. Screening of DNA concentration
M; *AccuLadder*™ Protein Size Marker (Low) (Cat.No. D-2020)
NC; Negative control (no-DNA)
PC; Positive control (pBIVT-AcGFP, 400 ng)
1; pK7-RFP 50 ng
2; pK7-RFP 100 ng
3; pK7-RFP 200 ng
4; pK7-RFP 400 ng
5; pK7-RFP 600 ng
6; pK7-RFP 800 ng

Hit!

AccuRapid™ Protein Synthesis Kit

☑ *E. coli* 무세포 단백질 발현 및 Ni-affinity 정제 실험에 사용되는 모든 구성품을 포함
☑ 반응 당 정제된 목적 단백질 100 μg 내외로 회수

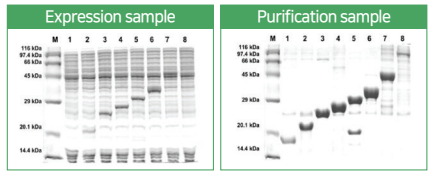


Figure 6. Results of expression and purification with various proteins
- M: *AccuLadder*™ Protein size marker (Broad) (Cat.No. D-2010)
- 1: CalmL3 (17.5 kDa)
- 2: DUSP3 (22 kDa)
- 3: CAT (24 kDa)
- 4: AcGFP (29 kDa)
- 5: ERFP (31 kDa)
- 6: EF-Ts (34 kDa)
- 7: VF (45 kDa)
- 8: BM3 (117 kDa)

매뉴얼 방식의 재조합 단백질 정제 키트

Hit!

MagListo™ His-tagged Protein Purification Kit

☑ His-tag을 가지고 있는 단백질 정제
☑ Kit 내 구성품인 자석을 이용하거나, centrifuge를 이용하여 정제 가능

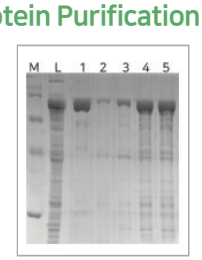


Figure 7. Comparison with other products
- M: *AccuLadder*™ Protein size marker (Broad) (Cat. No. D-2010)
- L: Loading whole sample
- 1: *MagListo*™ His-tagged Protein Purification Kit
- 2: Company A
- 3: Company B
- 4: Company C
- 5: Company D

MagListo™ Protein G, Protein A and Protein L Kit

☑ Magnetic nano bead를 사용하여 항체를 정제
☑ 95% 이상 고순도의 protein G, A, L이 코팅된 magnetic silica bead 사용
☑ *ExiProgen*™ Consumable SET 와 함께 사용하면, 자동화 장비에서도 정제 가능

주문정보

카탈로그 번호	제품명
Template DNA preparation	
K-7400	*ExiProgen*™ ProXpress PCR Template Kit
K-7410	*ExiProgen*™ Protein Expression Optimization Kit
K-7350	pBIVT Vector Set-1 (each 5 μg)
K-7110	*AccuRapid*™ Cloning Kit
S-4010	Gene Synthesis Service
S-6010	Gene Cloning Service
Automatic Protein Synthesis/Purification	
A-5041	*ExiProgen*™
K-7300~2	*ExiProgen*™ EC Protein Synthesis Kit
K-7310	*ExiProgen*™ EC-Maxi Protein Synthesis Kit
K-7340	*ExiProgen*™ EC-Bulk Protein Synthesis Kit
K-7320	*ExiProgen*™ EC-Tagfree Protein Synthesis Kit
K-7330	*ExiProgen*™ EC-Disulfide Protein Synthesis Kit
K-7220~1	*ExiProgen*™ His-tagged Protein Purification Kit
KA-3001	*ExiProgen*™ Consumable Kit
K-7240	*ExiProgen*™ Dialysis Kit
Manual Protein Synthesis/Purification Kit	
K-7250	*AccuRapid*™ Cell-Free Protein Expression Kit
K-7260	*AccuRapid*™ Midi Protein Expression Kit
K-7270	*AccuRapid*™ Maxi Protein Expression Kit
K-7280	*AccuRapid*™ Protein Synthesis Kit
K-7200	*MagListo*™ His-tagged Protein Purification Kit
K-7710	*MagListo*™ Protein G Kit
K-7720	*MagListo*™ Protein A Kit
K-7730	*MagListo*™ Protein L Kit
Service	
S-4010	Gene to Protein Synthesis Service
S-2500	Standard Protein Synthesis Service

Contact Us

| 바이오니아(본사)

대전광역시 대덕구 문평서로 8-11 (문평동) 1588-9788 sales@bioneer.co.kr www.bioneer.co.kr

| 강동사무소 | 강서사무소 | 강남사무소 | 강북사무소 | 판교사무소 | 대전·전북사무소 | 대구사무소 | 부산사무소

Copyright 2021 by Bioneer Corporation. All Rights Reserved.