ペプチドシークエンスサービス

Peptide sequencing service

01

基本情報 Information

ABOUT

精製したタンパク質・ペプチドのアミノ酸配列を、エドマン分解法を用い、N末端側から1残基ずつ順次同定します。質量分析のようにデータベースに依存しないため、配列情報が乏しいタンパク質の解析にも適しています。下記の様な試料のN末端アミノ酸配列を確認する際にご利用ください。



業界最安値水準で、高品質ペプチドシークエンスサービスを
ご提供しております。

- 化学合成されたペプチド
- 単離・精製したタンパク質
- 未知タンパク質
- リコンビナントタンパク質
- プロセシングされたタンパク質

PRICE

▶ 基本料金（税別）

1検体（5残基まで）	￥48,000
6残基以降は1残基につき	￥4,500

例：1検体10残基の場合
48,000円+4,500円×5 ＝ 70,500円（税別）
※10 pmol以上、PVDF膜もしくは液体サンプルでお願いします。

▶ オプション料金（税別）

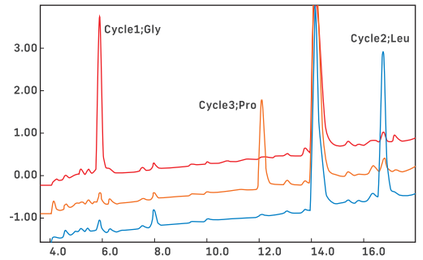
脱塩・濃縮（ProSorbによる）	￥15,000
システイン残基検出（還元アルキル化）	￥30,000

利用方法等 How to use

ペプチドシークエンスサービスのご利用方法について

単離・精製したタンパク質や、リコンビナントタンパク質等のN末端アミノ酸配列を確認する際に、弊社受託分析サービスの利用をご検討ください。試料はPVDF膜、液体の形態にて分析可能です。サービスをご希望の際は、下記の手順に沿って試料を準備し、お近くの販売店までご注文ください。お急ぎでの分析を希望される場合、早めにその旨もご連絡ください。

ペプチドシークエンス解析結果の例



PVDF膜転写試料の準備方法

1）ブロッティングについて

目的のタンパク質をブロッティング装置によりPVDF膜に転写してください。転写緩衝液は、一般的なもの（例:3.03g/l Tris、14.4 g/l グリシン、10-20%メタノール）やその他の緩衝液（アミノカプロン酸、ホウ酸）でもかまいません。5万以上の分子量のバンドを転写したい場合はメタノール濃度を低めにした方が効率良く転写されます。十分にPVDF膜に転写されていれば問題ありません。

2）転写後の操作について

1. 転写済みのPVDF膜を0.1%クマシーブリリアントブルーR250、50%メタノール溶液に浸漬します。
   染色液は使い回したものを使用しないでください。また、容器とピンセットも清浄なものを使用してください。
2. 1分間程度緩やかに振盪し、膜全体が染まったら、染色液を捨てます。
3. 50%メタノールを加え、30秒間程度緩やかに振盪した後、液を捨てます。
4. バックグランドが脱色され、タンパク質のバンドが見えるまで3.の操作を繰り返します。
   タンパク質のバンドが消えないように注意してください。
5. 新しい容器に膜を移し替え、超純水（ミリQ水）ですすぎます。1分間程度振盪した後、液を交換します。
   これを10回繰り返してください。すすぎはとても重要な工程です。
6. 濾紙上でPVDF膜を乾燥させます。濾紙を交換しつつ、濾紙が濡れなくなるまで良く乾かしてください。
   PVDF膜は濡れていると透明感がありますので、白くなるまで乾燥させてください。
7. 乾いたPVDF膜から、ディスポーザブルの剃刀で目的のバンドを切り取り、エッペンドルフチューブに入れて
   常温で保管してください。膜の乾燥が不完全でも、冷蔵保管であれば問題ありません。

ペプチドシークエンスサービスの注意点について

- 必要最低試料量の検出限界値は10 pmolです。分子量の大きなタンパク質程必要グラム数が多くなります。
- 溶液を分析する際は、試料以外の不揮発性成分を含まなければそのまま分析可能です。
  緩衝液、塩類を含む場合は脱塩処理（￥15,000（税別））が必要です。
- システインは分析時に分解される為、検出を希望する際は還元アルキル化（￥30,000（税別））が必要です。
- 分析試料に複数のタンパク質が混合している際は、複数候補となり、配列の特定が困難になる場合があります。
- N末アミノ酸残基がアセチル化、ピログルタミル化修飾されている場合、分析自体行う事ができません。
- アミノ酸残基が糖鎖修飾されている場合、そのサイクルのみ検出できず、ブランクとなります。
- アミノ酸残基がリン酸化修飾されている場合、リン酸化スレオニンとリン酸化チロシンは検出できず、
  ブランクとなります。リン酸化セリンは感度が落ちますがデヒドロアラニンとして検出可能な場合があります。

研究試薬用コラーゲン

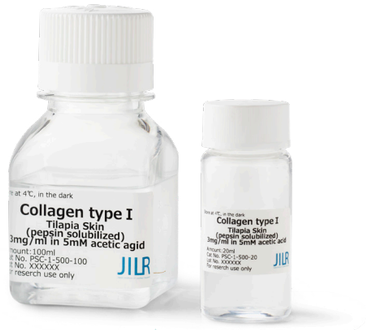
collagen for research reagents

02

基本情報 Information

ABOUT

細胞との親和性に優れ、
研究分野で
広く利用されています。



取り扱い製品
抽出方法：ペプシン処理
溶媒：5mM酢酸溶液
規格：0.45μmフィルター濾過済

コラーゲン抽出方法と分子種の特長

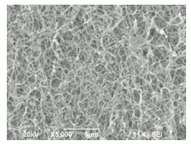
▶ ペプシン可溶化コラーゲン
(PSC:Pepsin Solubilized Collagen)
・酵素でテロペプチドを切断したアテロコラーゲン
・細胞接着性に優れ、コート培養に最適

▶ I型コラーゲン
骨や腱、真皮に豊富に存在し、細胞外マトリックスの主成分となっている線維性コラーゲンです。

用途 細胞培養など

再構成線維

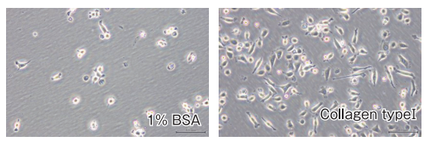
生理的条件下で、緻密な線維を形成。



Collagen typeIをPBS(−)で中和し、
37℃で再構成させた線維のSEM像(×5000)

優れた細胞接着性

BSAと比較して、優れた細胞接着性を示します。



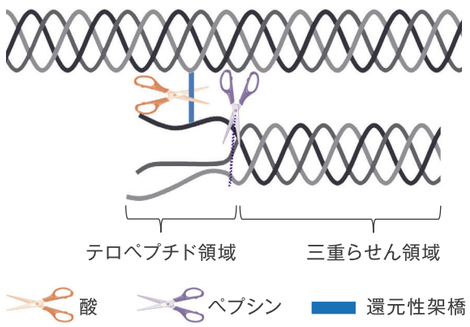
培養1日目のヒト表皮細胞由来株化細胞の接着性

PRICE

商品コード	商品名	濃度	容量	定価(税別)
PSC-1-101-20	ウシ腱由来　I型コラーゲン	3mg/ml	20ml	¥14,400
PSC-1-101-100			100ml	¥48,000
PSC-1-201-20	ブタ腱由来　I型コラーゲン	3mg/ml	20ml	¥14,400
PSC-1-201-100			100ml	¥48,000
PSC-1-400-01	ラット腱由来　I型コラーゲン	2mg/ml	1ml	¥6,720
PSC-1-601-20	ダチョウ腱由来　I型コラーゲン	3mg/ml	20ml	¥14,400
PSC-1-601-100			100ml	¥48,000
PSC-1-300-10	ニワトリ真皮由来　I型コラーゲン	2mg/ml	10ml	¥21,600
PSC-1-500-20	テラピア真皮由来　I型コラーゲン	3mg/ml	20ml	¥20,400
PSC-1-500-100			100ml	¥68,400

製品説明 product description

コラーゲンの抽出方法

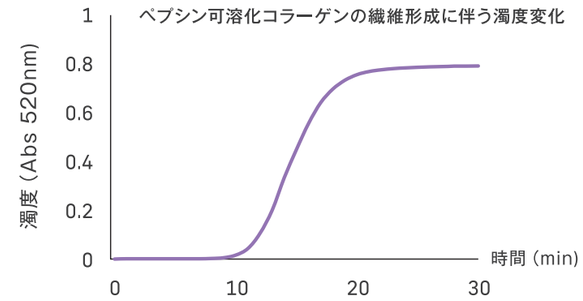




ペプシン可溶化コラーゲン(PSC)

細胞とコラーゲンの接着に係る三重らせん領域が保持されているため、ペプシン可溶化コラーゲンは優れた細胞接着性を有します。

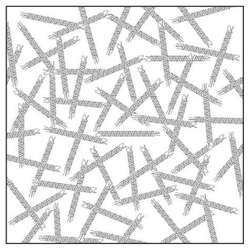
コラーゲンは生体内で分子同士が繊維状に会合して存在し、さらに分子間で架橋を形成することで安定化します。コラーゲンの架橋は主にテロペプチド領域を介して形成されます。架橋には、酸によって切断可能な架橋と(還元性架橋)と、酸により切断できない架橋(成熟架橋)があり、通常、年齢とともに成熟架橋の割合が増加します。
ペプシン可溶化コラーゲン(PSC)は、テロペプチド領域をペプシンで切断することで、成熟架橋を含むコラーゲンを溶かし出したものになります。



※コラーゲン濃度0.5mg/mlになるようにPBSで希釈後、37℃に加温した時の520nmの吸光度の変化(層長1cm)。

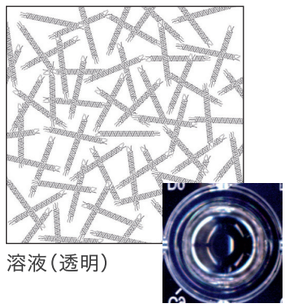
コラーゲンのゲル化

酸性条件下(低温)



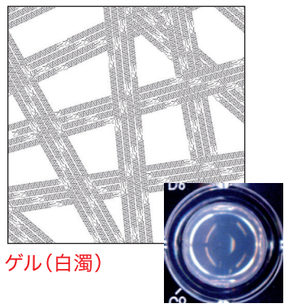
溶液

中性条件下(低温)
※生理的塩濃度の場合



溶液(透明)

中性条件下(加温)
※生理的塩濃度の場合



ゲル(白濁)

コラーゲンは塩基性のアミノ酸を多く含むため、酸性溶液中ではプラスに荷電し反発しあうことで溶解しています。一方、中性条件下では反発力が弱まり、分子同士が会合します。その際、塩のない状態ではコラーゲンは直ちに凝集してしまいますが、生理的な塩濃度溶媒中では、低温下でしばらく溶けていられます。この状態で、加温すると徐々にコラーゲン同士が会合して線維を形成し、線維が相互作用してネットワークを形成することでゲル化します。

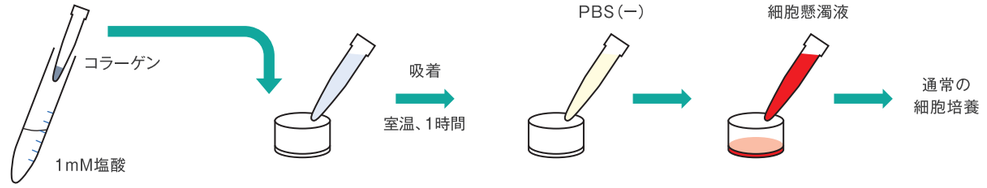
02 研究試薬用コラーゲン collagen for research reagents

実験例 experimental example

ビデオジャーナル：I型コラーゲン培養基材の調製プロトコル紹介

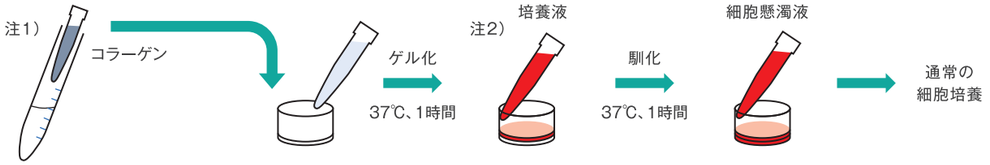
Fujisaki H, Futaki S, Mizuno K, Hattori S. Evaluation of keratinocyte proliferation on two- and three-dimensional type I collagen substrates. J Vis Exp. (2019)

I型コラーゲン コート上培養



1mM塩酸にてコラーゲンを300倍希釈する。／培養容器に注ぎ、全面が覆われるように緩やかに振る。／コラーゲン溶液を除去してから、PBS(ー)で2回洗浄する。／細胞懸濁液を注ぐ。

I型コラーゲン ゲル上培養



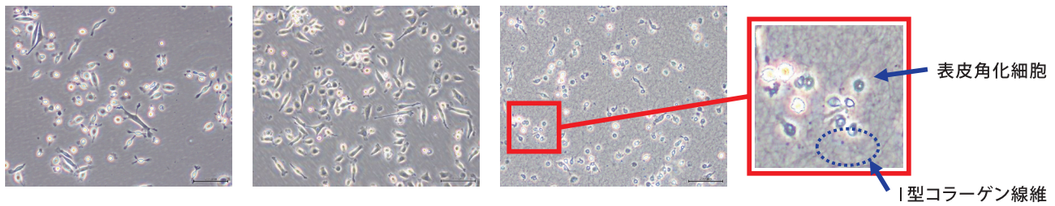
1.5×PBS(ー)に対し、半分量のコラーゲンを加え素早く撹拌する。／培養容器に注ぎ、全面が覆われるように緩やかに振る。／ゲルの1.5倍量以上の培養液を静かに注ぐ。／培養液を除去してから細胞懸濁液を注ぐ。

注1）コラーゲン、1.5×PBS(ー)、培養容器は氷上にて冷やしてから使用すること。 注2）ゲルが崩れないように、チップの先端が培養容器の壁に接した状態で注ぐこと。

I型コラーゲン線維化ゲル上での細胞挙動（表皮角化細胞のアポトーシス）

Fujisaki H, Hattori S. Keratinocyte apoptosis on type I collagen gel caused by lack of laminin 5/10/11 deposition and Akt signaling. Exp Cell Res. 280, 255-269 (2002)

1. 無処理の培養容器上培養　2. I型コラーゲン コート上培養　3. I型コラーゲン ゲル上培養



健常な皮膚組織では、表皮角化細胞とI型コラーゲンが直接、接することはありません。しかし、ケガをした時など、皮膚組織の構造が壊されて真皮が露出した際には、表皮角化細胞がI型コラーゲンと接する場合があります。よって、I型コラーゲンを足場に用いて表皮角化細胞を培養する実験は、創傷時を再現した培養モデルと考えられています。
表皮角化細胞を、I型コラーゲンで処理していない培養容器で培養した場合と比較して、ゲル化していないI型コラーゲンの上では、細胞の接着、伸展、増殖が促進されます。その一方、ゲル状のI型コラーゲンの上で培養した場合は、接着、伸展、増殖は抑制され、アポトーシスと呼ばれる細胞死が誘導されます。

加齢／糖化研究試薬 AGEs
Advanced glycation end products

03

基本情報 Information

ABOUT

非酵素的糖化反応（Glycation）は、カルボニルによる生体タンパク質の翻訳後修飾・変性過程の一つであり、その最終産物はAGEs（Advanced glycation end products）と呼ばれています。
AGEsは、加齢や糖尿病をはじめとする生活習慣病、ならびに炎症や酸化ストレスの増大に伴って増加することが判っており、それらとの関連が注目されています。

CMA（冷蔵品）



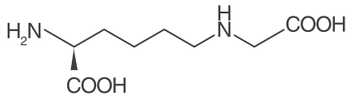
CMA : N^{ω}-(Carboxymethyl)-L-arginine



カルボキシメチルアルギニン（Carboxymethyl Arginine:CMA）は、アルギニン残基にグリオキサールが反応して生成されるAGEsであり、特にコラーゲンに形成され易いという特徴があります。また糖尿病患者では血中の存在量が多い事が確認されています。
[Odani et al, Biochem.Biophys.Res.Commun., 2001] [Iijima et al, Biochem.J., 2000]

※現在、CMA購入の方に CMA-$^{13}C_6$ $^{15}N_4$[1mg/ml 0.1ml] をサンプルとしてご提供しております。（なくなり次第終了となります）

CML（冷蔵品）



CML : N^{ε}-(Carboxymethyl)-L-lysine



カルボキシメチルリジン（Carboxymethyl Lysine:CML）は、AGEsの主要成分の一つとして知られ、老化や糖尿病等の進行に伴って、血管や眼（レンズ）などの組織に蓄積されます。
また、AGE受容体の一つであるRAGEは、CMLを含む構造をリガンドとして認識します。
[Kislinger et al., J.Biol.Chem., 1999]

PRICE

商品コード	商品名	容量	定価（税別）
CMA-105	カルボキシメチルアルギニン（CMA）	5mg	¥9,300
CMA-110		10mg	¥15,000
CML-105	カルボキシメチルリジン（CML）	5mg	¥9,300
CML-110		10mg	¥15,000

※CMA-105およびCMA-110には CMA-$^{13}C_6$,$^{15}N_4$（1mg/ml, 0.1ml）が1点付属。なくなり次第終了。