DNA損傷検出
モノクローナル抗体

紫外線で誘起される DNA 損傷に特異的に結合します

紫外線誘発 DNA 損傷モノクローナル抗体

Anti Cyclobutane Pyrimidine Dimers (CPDs) [Clone : TDM-2]

Anti (6-4) photoproducts (6-4PPs) [Clone : 64M-2]

Anti Dewar photoproducts (DewarPPs) [Clone : DEM-1]

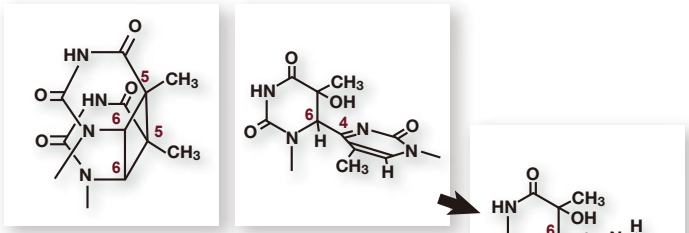
紫外線を浴びすぎると日焼け、光老化、皮膚がん、目の障害、免疫能の低下など、さまざまな悪影響が生じます。この健康影響に深く関係しているのが DNA 損傷です。紫外線照射により DNA のピリミジン塩基が連続した箇所で変化が生じ、３種類の主要ピリミジン二量体（シクロブタン型ピリミジンダイマー、6-4 型光産物、Dewar 型光産物）が形成されます。これらの紫外線損傷は DNA の複製や転写に影響を与え、突然変異やアポトーシスなどを引き起こします。弊社抗体ブランド CAC では、これら３種類の紫外線 DNA 損傷をそれぞれ高特異的に認識するモノクローナル抗体を取りそろえました。ELISA による損傷定量や細胞および組織蛍光染色による損傷可視化に高性能を発揮し、DNA 修復、損傷応答、がん化、光老化、免疫、美容など幅広い研究分野において強力な研究ツールとなります。実際に、本抗体を用いた研究成果は、Nature や Cell など多くの主要国際雑誌に発表されています。

提供者：奈良県立医科大学先端医学研究機構ラジオアイソトープ実験施設　教授　森 俊雄 先生

特 長

- 各々の紫外線 DNA 損傷に特異的に反応
- ELISA、免疫蛍光法、免疫組織化学等のアプリケーションでご使用いただけます。
- DNA 損傷と修復の研究に最適です。
- DNA 損傷と修復のプロセスを可視化します。
- 癌研究、光生物学、皮膚科学、眼科学、免疫学、化粧品分野など幅広い研究分野でご使用いただけます。

太陽紫外線で誘発される主要 DNA 損傷



シクロブタン型ピリミジンダイマー (CPD)

6-4 型光産物 (6-4PP)

Dewar 型光産物 (DewarPP)

参考文献

(1) Toshio Mori, Misa Nakane, Tsuyoshi Hattori, Tsukasa Matsunaga, Makoto Ihara, Osamu Nikaido, Simultaneous establishment of monoclonal antibodies specific for either cyclobutane pyrimidine dimer or (6-4) photoproduct from the same mouse immunized with ultraviolet-irradiated DNA. *Photochem. Photobiol.*, **54**: 225-232 (1991).

(2) Tsukasa Matsunaga, Yuri Hatakeyama, Michi Ohta, Toshio Mori and Osamu Nikaido, Establishment and characterization of a monoclonal antibody recognizing the Dewar isomers of (6-4) photoproducts. *Photochem. Photobiol.*, **57**: 934-940 (1993).

コスモ・バイオ株式会社　メーカー略号：CAC

品名	免疫動物	クローン	適用	品番	包装	希望販売価格
Anti CPDs	Mouse	TDM-2	ELISA / IC	NM-DND-001	1 vial	￥44,000
Anti 6-4PPs	Mouse	64M-2	ELISA / IC	NM-DND-002	1 vial	￥44,000
Anti DewarPPs	Mouse	DEM-1	ELISA / IC	NM-DND-003	1 vial	￥44,000

お手持ちの作製抗体を共同販売ブランドの CAC にエントリーしませんか？
コスモ・バイオでは大学、研究機関由来の抗体製品化をお手伝いします。

詳しくはコスモ・バイオ HP の「サイト内検索」から　CAC　検索

人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

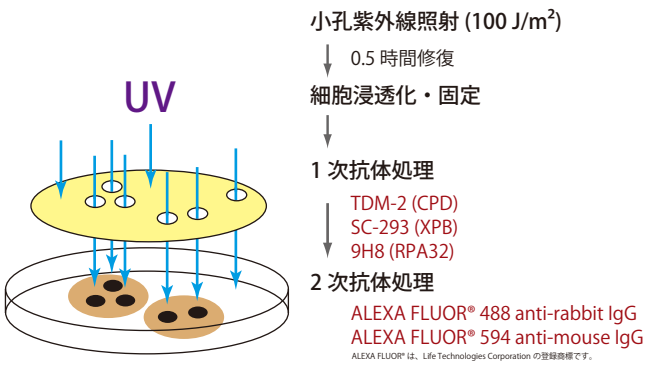
DNA損傷検出モノクローナル抗体

紫外線誘発 DNA 損傷モノクローナル抗体

Anti CPDs [Clone : TDM-2]
Anti 6-4PPs [Clone : 64M-2]
Anti DewarPPs [Clone : DEM-1]

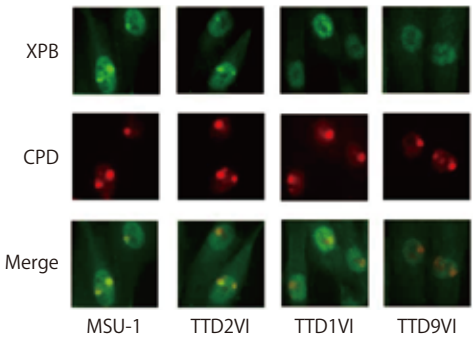
細胞免疫染色法（immunocytochemistry）

小孔紫外線照射と蛍光免疫染色を利用した DNA 修復の可視化



DNA 損傷抗体は蛍光免疫染色に応用できるため、次のような実験が可能となる。ポリカーボネート製フィルターの小孔を利用して、細胞核の 1-3 ヶ所をスポット状に紫外線照射する。照射直後、あるいは修復後、細胞内の DNA 損傷や修復タンパク質を特異抗体を用いて二重に蛍光染色する。これらの蛍光画像を比較することにより、修復タンパク質の損傷部位への集積の有無や、複数の修復タンパク質の集積順序などの解析が可能となる。

紫外線局所照射後の XPB の損傷部位への集積

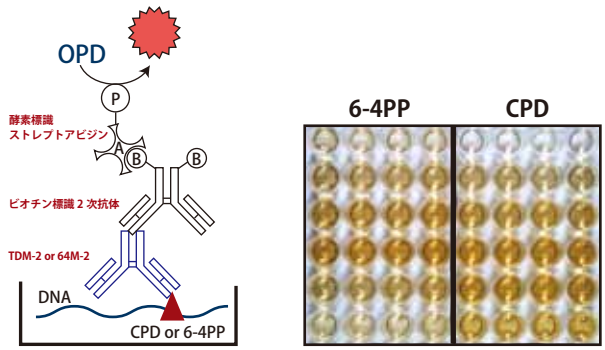


Nishiwaki *et. al., J. Invest. Dermatol.* **122**: 526-532, 2004.

ヒト正常細胞 (MSU-1) では、紫外線照射 30 分後には、修復タンパク質 XPB は局所 DNA 損傷部位に集積し修復に関与していることがわかる。一方、修復欠損遺伝病 TTD（硫黄欠乏性毛髪発育異常症）細胞では、損傷部位に集積する XPB は正常細胞に比べて少ないことがわかる。

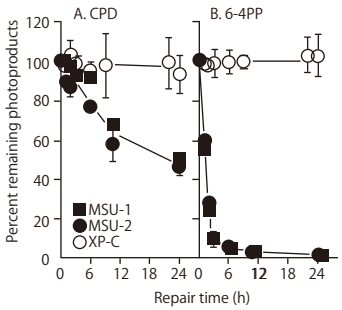
ELISA

ELISA 法による紫外線誘発 DNA 損傷の測定



DNA 損傷抗体を ELISA（酵素標識免疫法）に応用し、DNA 中の紫外線損傷を高感度に検出することができる。紫外線照射直後、あるいは修復後の細胞や組織からゲノム DNA を精製し、一定量を 96 プレートにコートする。DNA 損傷抗体を損傷に結合させた後、ビオチン標識 2 次抗体および酵素標識ストレプトアビジンでシグナルを増幅させる。最後に、基質を加え着色させ 492 nm で測定する。

ELISA 法による DNA 損傷修復動態の解析



Nakagawa *et. al., J. Invest. Dermatol.* **110**: 143-148, 1998.

ELISA を用いた DNA 修復実験の結果を示す。ヒト正常細胞（黒シンボル）は紫外線で誘発されたシクロブタン型ダイマー (CPD) の 50% を 24 時間で、また、(6-4) 光産物 (6-4PP) の 90% を 3 時間で修復する。これらの DNA 損傷はともにヌクレオチド除去修復で修復されるが、6-4PP は CPD に比べ二本鎖 DNA を大きく歪ませるために優先的に修復される。一方、修復欠損遺伝病である色素性乾皮症 XP-C 細胞では両損傷のゲノム DNA からの修復は起こらない。

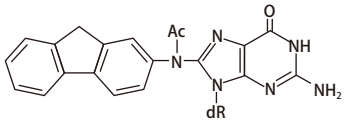
抗アセチルアミノフルオレン -DNA 付加体モノクローナル抗体

Anti AAF-DNA adducts　[Clone : AAF-1]

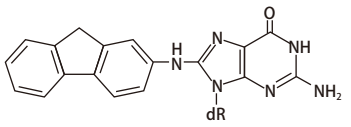
アセチルアミノフルオレン (2-AAF) は動物を用いた肝臓がん、膀胱がん、腎臓がん、大腸がん、および乳がんなどの発がん誘発実験に長く利用されてきました。2-AAF の活性体の一つである NA-AAF (N-acetoxy-2-AAF) は発がんに加え、細胞レベルで致死、染色体異常、突然変異などを引き起こします。こうした作用の原因として、DNA グアニン残基への結合体で 3 種類の AAF-DNA 付加体が考えられています。つまり、グアニン C8 位の付加体で dG-C8-AAF、その脱アセチル体の dG-C8-AF、および N2 位の付加体である dG-N2-AAF ですが、C8 位付加体の方が N2 位付加体に比べ形成量が多いです。AAF-1 抗体は 1 本鎖 DNA 中の dG-C8-AAF および dG-C8-AF と特異的に結合します。それ故、酵素標識免疫法（ELISA）を用いて AAF-DNA 付加体を高感度検出できることに加え、蛍光免疫染色法を用いて細胞や組織中の付加体を可視化できます。こうした機能をもつ抗体は世界に例がなく、発がんや制がんに関する多くの研究に貢献することが期待されます。

提供者：奈良県立医科大学先端医学研究機構ラジオアイソトープ実験施設　教授　森 俊雄先生

AAF-1 抗体が結合する AAF-DNA 付加体

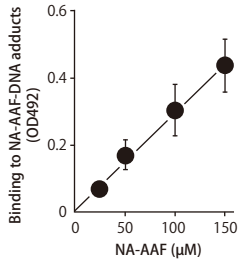


dG-C8-AAF



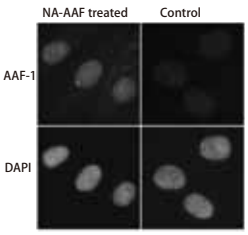
dG-C8-AF

ヒト細胞における AAF-DNA 付加体の NA-AAF 処理濃度依存的形成



各種濃度の NA-AAF を細胞に 30 分間処理した後、DNA を抽出した。その後、AAF-1 (1/100) を利用した高感度 ELISA により AAF-DNA 付加体を測定した。

ヒト細胞における AAF-DNA 付加体形成の可視化



細胞に 200 μM NA-AAF あるいは対照溶媒を 30 分間処理した後、浸透化および固定を行った。
その後、AAF-1(1/25)および ALEXA FLUOR® 488 goat anti-mouse IgG を連続処理し、AAF-DNA 付加体を可視化した。細胞核 DNA は DAPI で染色した。

コスモ・バイオ株式会社　メーカー略号：CAC

品名	免疫動物	クローン	適用	品番	包装	希望販売価格
Anti AAF-DNA adducts	Mouse	AAF-1	ELISA / IC	NM-MA-001	1 vial	￥50,000

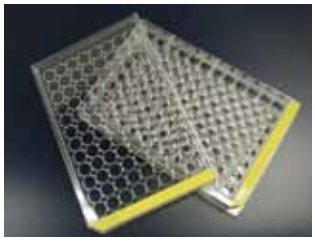
DNA 損傷抗体での ELISA アッセイへ有用です

PROTAMINE SULFATE COATED ELISA PLATE

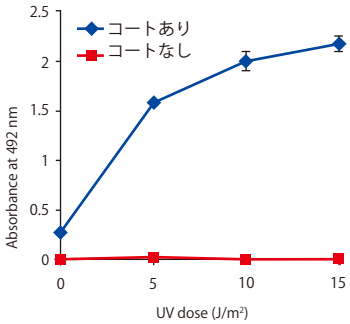
New

硫酸プロタミンはカチオン性タンパク質であり負電荷を持つ DNA と効率的に結合することが知られています。硫酸プロタミン処理は、プレートへの DNA 固相化を強固にかつ安定化します。DNA 損傷抗体での ELISA アッセイでより安定した「正確なデータ」を得るために、本製品をご利用ください。

- 安定した DNA 結合性
- 少量（低濃度）サンプルでも高いシグナルを検出
- 室温保存が可能
- プレートシール含む



硫酸プロタミンコートの有無による結合能の比較



UVC 照射後の DNA を 20 ng/well の濃度で固相化し、CPDs (Cyclobutane pyrimidine dimers) と特異的に結合する抗体 (Anti-CPDs [クローン：TDM-2]) を用いて ELISA 法により DNA 損傷量を定量した。
硫酸プロタミンコートにより少量の DNA 量でも安定に保持することができ、より正確なデータを得ることが可能です。

コスモ・バイオ株式会社　メーカー略号：CSR

品名	品番	包装	希望販売価格
PROTAMINE SULFATE COATED ELISA PLATE 96	NM-MA-P001	1 plate	￥2,000
PROTAMINE SULFATE COATED ELISA PLATE 96×5	NM-MA-P002	5x1 plate	￥9,500
PROTAMINE SULFATE COATED ELISA PLATE 96×10	NM-MA-P003	10x1 plate	￥18,000

DNA損傷検出モノクローナル抗体

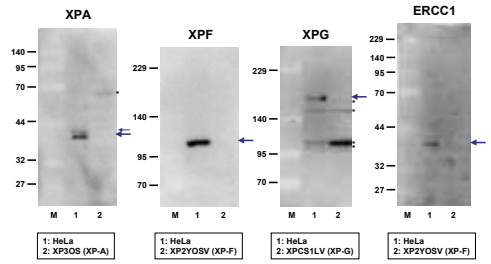
ヌクレオチド除去修復 NER 機構関連因子抗体

Anti XPA　[Clone : A-2]　　Anti XPF　[Clone : 19-16]
Anti XPG　[Clone : G-26]　　Anti ERCC1　[Clone : E1-44]

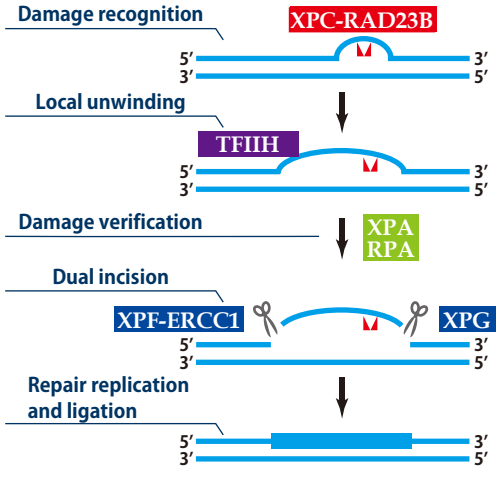
ヌクレオチド除去修復 (nucleotide excision repair: NER) は紫外線による DNA 傷害やかさ高い化学物質の塩基付加体など多種の DNA 傷害を修復できる重要な DNA 修復機構であり、NER 機構に異常をもつヒト遺伝疾患として色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum: XP) やコケイン症候群（Cockayne syndrome: CS）等が知られています。NER 機構のコア因子である XPA、XPF、XPG、ERCC1 に対する全ての抗体は、ウェスタンブロッティングへの適用が確認されています。

提供者：金沢大学医薬保健研究域薬学系　教授　松永 司 先生

Western blot 検出



Current Model for the Dual Incision Process of NER



コスモ・バイオ株式会社　メーカー略号：CAC　　＊：BAM で始まる品番のメーカー略号は BAM

品名		免疫動物	クローン	適用	品番	包装	希望販売価格
Anti XPA	XPA タンパク質は 273 アミノ酸から成り、NER 反応に必須の因子である。このタンパク質に先天的異常をもつ色素性乾皮症 A 群患者は重篤な NER 欠損を示し、太陽露光部において著しい高発がん性を示す。XPA タンパク質は損傷 DNA に親和性があり、RPA、ERCC1、TFIIH、XAB1、XAB2 タンパク質など多くの NER 因子とも相互作用し、損傷 DNA 鎖の確認や修復複合体の足場として働くと考えられている。						
		Mouse	A-2	WB	KUP-TM-M01	100 µl	￥50,000
		Mouse	5F12	WB / ELISA	70-031＊	50 µg	￥20,000
		Mouse	5F12	WB / ELISA	70-032＊	250 µg	￥60,000
Anti XPF	XPF は 919 アミノ酸から成るタンパク質で色素性乾皮症 F 群の責任因子であり、ERCC1 と安定複合体を形成する。XPF-ERCC1 複合体は、DNA が 5′ から 3′ 方向に二本鎖から一本鎖になる境界でニックを入れる構造特異的エンドヌクレアーゼ活性をもち、NER 機構では DNA 損傷の両側で切断が起こる Dual incision の 5′ 側切断を担当する。						
		Mouse	19-16	WB / IF	KUP-TM-M02	100 µl	￥50,000
Anti XPG	XPG は 1186 アミノ酸から成り，推定分子量は 133 kDa であるが、SDS-PAGE では 180 kDa 付近に泳動される。色素性乾皮症 G 群の責任因子であるが、変異の種類によってはコケイン症候群も併発する。XPG タンパク質は、DNA が 5′ から 3′ 方向に一本鎖から二本鎖になる境界でニックを入れる構造特異的エンドヌクレアーゼであり、XPF-ERCC1 複合体とは逆の極性をもつ。NER 機構では DNA 損傷の両側で切断が起こる Dual incision の 3′ 側切断を担当する。						
		Mouse	G-26	WB	KUP-TM-M03	100 µl	￥50,000
Anti ERCC1	297 アミノ酸から成る ERCC1 タンパク質は XPF と安定複合体を形成し、これは相互の安定化にも寄与する。XPF-ERCC1 複合体は、DNA が 5′ から 3′ 方向に二本鎖から一本鎖になる境界でニックを入れる構造特異的エンドヌクレアーゼ活性をもち、NER 反応では DNA 損傷の両側で切断が起こる Dual incision の 5′ 側切断を担当する。						
		Mouse	E1-44	WB	KUP-TM-M04	100 µl	￥50,000

お願い および 注意事項

(11762)

- 希望販売価格 ･･･「希望販売価格」は参考であり、販売店様からの販売価格ではございません。
  記載の希望販売価格は２０１２年１１月１日現在の希望販売価格です。
  予告なしに改定される場合がありますので、ご注文の際にご確認下さい。消費税は含まれておりません。
- 使 用 範 囲 ･･･記載の商品は全て、「研究用試薬」です。
  人や動物の医療用・臨床診断用等としては使用しないよう、十分ご注意ください。

取扱店

人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

〒135-0016　東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
URL : http://www.cosmobio.co.jp/

- 営業部（お問い合わせ）
  TEL : (03) 5632-9610　　FAX : (03) 5632-9619
  TEL : (03) 5632-9620