りの酸化シグナル

ハンドブック 第2版

どろりとしたものがある

略称・略号紹介

動物種

略称	和名
HU	ヒト
MS	マウス
BOV	ウシ
GT	ヤギ
RAB	ウサギ
CAN	イヌ
CHK	ニワトリ
GP	モルモット
HAM	ハムスター
MAM	哺乳類
MKY	サル
POR	ブタ
SHP	ヒツジ
XEN	アフリカツメガエル

適用

略称	和名
WB	ウエスタンブロット
IHC(p)	免疫組織化学パラフィン切片
IHC(f)	免疫組織化学凍結切片
FC	フローサイトメトリー
IB	免疫ブロット
IP	免疫沈降
IF	免疫蛍光法
IC	免疫細胞化学

毒劇・貯蔵

略号	意味
☠	医薬用外毒物
☞	医薬用外劇物
🌡	室温
🥶	4℃
🧊	-20℃
❄	-70℃

リン酸化シグナルハンドブック

目次

内容	ページ
キナーゼの解析	
活性測定キット	2
Aktシグナリング	2
細胞周期パスウェイ	4
MAPキナーゼシグナリング	7
JNK/SAPKパスウェイ	10
ERK/MAPKパスウェイ	11
プロテインキナーゼCパスウェイ	14
活性測定キット シリーズ	17
Proteome Profiler™ Array	17
パスウェイに特化した抗体マイクロアレイ	21
シグナル伝達関連抗体アレイ	22
K-LISA™ シリーズ	23
蛍光キナーゼアッセイキット	24
DuoSet® IC (Intracellular) Kinase Assay シリーズ	24
Surveyor™ IC ELISA Kit シリーズ	25
セルベースELISAキット	25
RT² Profiler™ PCR アレイ	26
Signal™ レポーターアッセイシステム	30
WideScreen™ EpiTag™ ERK Pathway Assays	35
WideScreen™ RTK Assays	37
遺伝子発現解析用M-PCR (マルチプレックスPCR) キットシリーズ	39
CASE™ パスウェイ活性化抽出キットシリーズ	41
Screen-Well™ インヒビターライブラリー	42
キナーゼ及びインヒビター	43
ホスファターゼの解析	
活性測定キット	46
プロテインホスファターゼアッセイキット	46
Aurora™ AP 化学発光レポーター遺伝子アッセイキット	47
アルカリホスファターゼアッセイキット	47
LEUCOGNOSTR SP 白血球酸性ホスファターゼ活性の検出	48
プロテインホスファターゼアッセイ SensoLyte™	48
プロテインホスファターゼアッセイ Amplitude™	49
プロテインホスファターゼアッセイ PhosphoWorks™	49
PhosFree™ ホスファターゼキット	50
DuoSet® IC Phosphatase Activity Assayシリーズ	50
ホスファターゼ及びインヒビター	51
プロテインホスファターゼインヒビターキット	51
プロテインホスファターゼ及びインヒビター	51
GTP結合タンパク質の解析	
活性測定キット	56
Gタンパク質活性測定キット G-LISA™	56
Gタンパク質：エフェクター相互作用アッセイ G-LISA™	57
低分子量タンパク質活性アッセイ Biochem Kits™	58
Gタンパク質サブユニット抗体セット	59
低分子量GTPase活性化アッセイキット	60
cAMPおよびcGMP ELISAキット	61
活性化Rac-GEFアッセイ	61
Screen Quest™ カルシウムアッセイキット	62
低分子Gタンパク質及びインヒビター	63
イノシトールリン脂質の解析	
ホスホиноシチド結合タンパク質の同定と機能解析キット	66
PIP Beads™ (PIPビーズ)	66
Cova PIP Plate™	66
PIP Strips™ & PIP Array™ (PIPストリップ及びPIPアレイ)	66
PIP MicroStrips™ (PIPマイクロストリップ)	67
PIP Grip™ Pellets (PIPグリッパレット)	67
Sphingo Array™ & Sphingo Strip™ (スフィンゴアレイとスフィンゴストリップ)	67
Membrane Lipid Array™ & Membrane Lipid Strip™ (膜脂質アレイと膜脂質ストリップ)	68
PIP ₃ Mass Strip & ELISA	68
シャトルPIPキャリアと標識キャリア	69
Shuttle PIPs™ (シャトルPIPキット)	69
PI3キナーゼ	70
AlphaScreen® PI3キナーゼ活性アッセイキット (発光法)	70
TRue-FRET™ PI3K 活性測定キット	70
ホスファチジルコリンアッセイキット	72
ホスファチジルコリン/スフィンゴミエリンアッセイキット	72
スフィンゴミエリンアッセイ	72
試薬	73
ホスホиноシチド (PI) 試薬	73
蛍光ホスホиноシチド試薬	74
イノシトールリン酸 (IP) 試薬	75
イノシトールピロリン酸 (IP ₂)	75
ハイブリッドホスホиноシチド Hy-PIP ₃ s™	76

内容	ページ
リン酸化タンパク質の検出	
検出キット	78
Multi-Analyte Profiler ELISAArray™ サイトカイン ELISAアレイ	78
PathProfiler™ ELISA キット	79
リン酸化IκBα ActiveELISA™ キット	79
リン酸化Tau ELISAキット	80
INNO-BIA AlzBio3	80
VASPリン酸化アッセイキット PLATELET VASP-FCM	81
ウサギモノクローナル抗体を用いたリン酸化タンパク質検出ELISAキット	81
ATPアッセイキット SL	82
リン酸化タンパク質抗体セット	82
精製と濃縮 (リン酸化タンパク質)	83
リン酸化タンパク質精製システムPhosphoCruz™	83
リン酸化タンパク質研究用 細胞&組織抽出液	83
リン酸化タンパク質プロテオミクス用ブロッキング試薬 PhosphoBLOCKER™	84
リン酸化抗体ストリッピング試薬	84
リン酸化タンパク質精製・濃縮キット	84
リン酸化タンパク質濃縮キット	85
ProteoEnrich™ ATP結合タンパク質濃縮キット	85
ATP結合性タンパク質精製キット	86
シグナル研究 汎用キット	
抽出・精製・濃縮システム	88
ChampionChIP™ One-Dayキット	88
ExactaCruz™ 免疫沈降/ウェスタンブロット検出システム	89
ProteoJET™ キット	90
ProteoExtract™ キット	91
ProteoSpin™ エンドトキシン除去キット	95
タンパク質定量解析用キット SERVA ICPL™ Triplex Kit	95
タンパク質定量キット Bradford ULTRA	96
ProLite™ タンパク質定量キット	96
BCAタンパク質定量キット	96
染色・検出システム	97
Picotan®/Picotein® 微量タンパク質検出試薬	97
WEST-one™ ウェスタンブロット検出システム	98
Review™ Stripping & Reprobing Buffer	99
リサイクリングキット	99
Western-Re-Probe™	99
ウェスタンブロット除去試薬 *BlotFresh™	100
リバーシブルタンパク質検出キット ZipT™	100
脱銀染色キット SILVERSUBTRACT™	100
技術情報	
Proteome Profiler™ Array	101
DuoSet® IC (IntraCellular) Assayディベロップメントシステム	105
RT² Profiler™ PCRアレイプロトコール	107
RT² profiler™ PCRアレイ&アッセイ FAQ集	114
CBL社低分子GTPase活性化アッセイキット	119

キナーゼの解析 Analysis of Protein kinases

プロテインキナーゼは、ATPやGTPのγ位のリン酸基を基質タンパク質のセリン/スレオニンやチロシンのヒドロキシル基へ転移させる酵素です。これらキナーゼはホスファターゼと共役して働くことで、遺伝子発現、細胞骨格形成、細胞接着、細胞周期の進行そして分化を精密にコントロールしています。シグナル伝達がうまく働かないと、癌や循環器疾患、アルツハイマー病そして糖尿病といった疾病になります。

プロテインキナーゼ

プロテインキナーゼは、チロシンキナーゼとセリン/スレオニンキナーゼに大別され、チロシンキナーゼは更に受容体型チロシンキナーゼと非受容体型チロシンキナーゼとに分類されます。

●受容体型チロシンキナーゼファミリー

RTK (Receptor protein Tyrosine Kinase)

メンバー					
Y C1qR	Eck	EGF-R	erb B-4	FGF-R	Flt-1
IGF-1-R	Insurin-R	KDR	PDGF-R	Ret	SHC
TPO-R	TrkA	TrkB	erb B-2	erb B-3	Fliit-3
Fms	Met	Nck	Sprouty	Tie-2	TrkC

●非受容体型チロシンキナーゼファミリー

NRTK (non-receptor Tyrosine Kinase)

メンバー					
Abl	FAK	Ikt/Emt	Pyk2	Yes	Csk
Fyn	Lck	Tec	Blk	Fes/Fps	
JAK1,2,3	Src	ZAP-70	Eck	Hck	Lyn
Tyk2	BTK	Fgr	Lat	Syk	

細胞外からの増殖シグナルや分化シグナルを受容することにより活性化され、細胞内シグナル伝達分子へ情報を伝えます。RTKは基本的にリガンド依存的に活性化されます。代表的な例としてはEGF-R (Epidermal Growth Factor receptor) があります。

■アダプター分子を介する代表的なシグナル経路

■リガンド依存的受容体型チロシンキナーゼの活性化

キナーゼドメイン内のATP結合部位近傍のA-loop構造がATPや基質の酵素への接近に阻害的に働きます。

受容体がリガンドに二重構造をとり、A-loop構造がATPや基質の接近を容易となるように位置するようになります。

酵素がトランスにA-loop上のチロシン残基をリン酸化します。

活性化型がより安定することにより、キナーゼ活性が亢進します。

Srcに代表されるSrcファミリーと、リガンド依存的にサイトカインレセプターが多重体化し、受容体チロシンキナーゼと同様に活性化されるJakファミリーを中心にいくつかのグループに分類されます。

■Src family (Src, Yes, fgr, Lck, Fyn, Lyn, Hck, Blk, Yrk) の活性調節

C末端のチロシン残基がホスファターゼにより脱リン酸化されます。

SH2ドメインおよびSH3ドメインの抑制がなくなり、活性化されます。

細胞外刺激に対し、細胞膜結合型受容体タンパク質と相互作用し、基質タンパク質をリン酸化します。

シグナルを細胞に伝えます。

●セリン/スレオニンキナーゼファミリー

メンバー					
AcCoA	AKAP 150	Akt 1-3	AMPK	Autocamtide	DNA-PK
GRK2/3,46	GSK3	IKK	IRAK	MBP	MEK1,2
MEK1,3	MESACUP™	MKK3,4,6,7	PKD1	PK	PKA
PKC	PKN	ROK alpha	Rsk1	Rsk2	SGK
SAMS	BMKErk5	Calcineurin	CaMK	CK	CK2
Crosstide	JNK 1-2	Kemptide	KSR	LKB1	MAPK1,2
MAPKAP	MEKK	MLK3	MSK 1-3	MST	p38 γ
PAK3	PKR	PLK1	PRAK	PRK2	Raf
Raf-1	SAPK 1-4	SGK	SKK (1-6)	Tak1	

Aktシグナリング

細胞死と細胞生存におけるAktシグナリング

背景

セリン/スレオニンキナーゼであるAkt(プロテインキナーゼB)は、細胞増殖、アポトーシス、血管新生、そして糖尿病などに関わる複数のシグナル伝達系において、重要な酵素として注目されています。哺乳類では、3種のAktのアイソフォーム(Akt α , Akt β およびAkt γ 、あるいはAkt1, Akt2, Akt3)が報告されています。これらのアイソフォームは互いに高い相同性を示しますが、活性調節のためのリン酸化部位の位置が若干異なります。

ほとんどの組織ではAkt α が最も多く見られるアイソフォームであるのに対し、Akt β はインシュリン反応性組織でもっとも発現が高く、また、Akt γ は脳組織に豊富に存在します。各Aktアイソフォームは、AktをPIP₂やPIP₃へと誘導する脂質結合モジュールを含んだN末端のプレクストリン相同(Pleckstrin homology: PH)ドメイン、中央部の触媒ドメイン(キナーゼドメイン)、そしてC末端の疎水性モチーフという機能的に異なる3つの領域から成っています。

細胞が無刺激の状態では、AktはPHと触媒ドメインの間にあるSer¹²⁴、そしてC末端領域のThr⁴⁵⁰(Akt α の場合)が常にリン酸化されています。Aktの活性化は、まず成長因子が受容体型チロシンキナーゼと結合し、PI3-Kが活性化され、膜結合型PI(4,5)P₂(PIP₂)のリン酸化によりPI(3,4,5)P₃(PIP₃)を生成することから始まります。そのPIP₃がAktのPHドメインに結合して細胞膜に固定され、3-フォスフォイノシチド依存性キナーゼ(PDK1)によってリン酸化されて活性化します。AGCキナーゼファミリーにおいて構造的・機能的に保存されている2つの調節性残基、すなわち、キナーゼドメインにあるスレオニン残基と疎水性モチーフ内のセリン残基がリン酸化されるとAktは完全に活性化します。Thr³⁰⁸とSer⁴⁷³のリン酸化がAkt α の活性化に必要である一方、Akt β 1とAkt β 2の活性化にはThr³⁰⁹とSer⁴⁷⁴のリン酸化が必要で、Akt γ はThr³⁰⁵のリン酸化によって活性化されます。キナーゼドメインにあるスレオニン残基のPDK1によるリン酸化はAktの活性化に必須です。それによって電荷誘起による立体構造変化が起こり、基質との結合を可能になるため、触媒反応速度が上昇します。PDK2によるセリン残基のリン酸化によって、Akt活性は約10倍増加します。また、DNA-PKやPKC θ は調節性サブユニットにあるセリン残基をリン酸化すると報告されています。スレオニンがリン酸化されていないと、Aktの疎水性モチーフはフォスファターゼの作用を受けやすくなりますが、二重リン酸化され完全活性型となったAktは安定で、細胞核またはその他の場所への局在が可能になります。Akt活性はPTEN(PIP₃特異的フォスファターゼであるphosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10)やSHIP(SH2-domain containing inositol 5'-phosphatase)によって負の調節を受けます。

Aktの主な役割は、成長因子介在性の細胞生存の促進とアポトーシスによる細胞死の阻害です。これは、Bad、カスパーゼ9、フォークヘッド転写因子(AFX, Daf-16, FKHR)などのアポトーシス促進因子のリン酸化と脱活性化によって行われます。BadのSer¹³⁶がリン酸化すると、Badと14-3-3タンパク質の細胞質内結合を促進し、それによって、アポトーシスの引き金となるBadのミトコンドリアへの局在を抑制します。また、Aktはカスパーゼ9のSer¹⁹⁶をリン酸化して不活化することでも、細胞生存を促進します。同様に、活性化Aktはフォークヘッドファミリー転写因子をリン酸化して、細胞質に局在させます。生存因子やAkt活性がない状態では、フォークヘッドファミリー転写因子は核内に移行し、細胞死を促進する遺伝子発現(FasLなど)プログラムを開始します。また、AktはIKK α のThr²³もリン酸化し、活性化することが報告されています。活性化されたIKK α はI κ Bをリン酸化し、ユビキチン化、続いてプロテアソームによる分解へと誘導します。これは、NF- κ Bの活性化と核内への移行を引き起こし、NF- κ B依存性であるBcl-x_Lやカスパーゼ抑制因子などの生存促進遺伝子の転写が起こります。Aktは、GSK-3もリン酸化することにより不活化し、グリコーゲン合成酵素の働きを促進することが知られている。GSK-3によりリン酸化されたサイクリンDがタンパク質分解されるということは重要なポイントです。つまり、AktがGSK-3を不活化することによって、サイクリンDの上方制御と細胞周期の進行を促進する可能性があります。近年、DNA損傷エフェクターキナーゼであるChk1のSer²⁸⁰がAktによりリン酸化されると、Chk1の活性に必要なATM/ATRによるSer³⁴⁵のリン酸化が起こらないということが明らかとなりました。Chk1の抑制は腫瘍の化学療法剤への感受性を強化することが示されているため、Aktががん治療において重要性を持つ可能性があります。また、AktはCdc25BのSer³⁵³のリン酸化も行い、Cdc25Bの細胞質内に蓄積させます。Cdc25BはS期に活性化し、細胞質において細胞分裂を促進するキナーゼ、Cdk1/サイクリンBを活性化します。Cdc25Bを細胞質に再移行させて、Aktはその機能を調節し、細胞分裂開始のコントロールに関与しています。

Aktが細胞生存の重要な調節因子であることから、腫瘍形成に関しても重要な意味があるといえます。数多くのがん遺伝子とがん抑制遺伝子がAktの上流で機能し、Aktを調節することによってがんの進行に影響を与えています。

Akt α は乳癌細胞株において発現しており、エストロゲン刺激性の増殖に重要であることが示されています。Akt阻害剤である1L-6-Hydroxymethyl-*chiro*-inositol 2-(R)-2-Omethyl-3-O-octadecylcarbonate(カルビオケム製品番号124005)を多発性骨髄腫細胞株に処置すると、薬剤耐性細胞と薬剤感受性細胞の両方で生存率が低下します。Aktはp27^{Kip1}やPTENなどのがん抑制遺伝子が機能を失うと活性化され、腫瘍形成において重要な役割を果たします。p27はAktによりThr¹⁵⁷にリン酸化を受けると、その核内への移行が阻害され、細胞質内に蓄積します。ヒトの乳癌では、p27の細胞質内における異常局在は、腫瘍の脱分化および患者の予後不良と強く関連性が認められています。また、Aktは細胞周期阻害因子である内在性p21と物理的に結合し、Thr¹⁴⁵をリン酸化して、細胞質への局在化とそれに続く分解を引き起こすことが報告されています。

Aktとp53は、細胞の生存を決定するシグナル伝達系において相反する役割を持ち、これら2つの分子の相互作用は重要な研究分野となっています。p53によるアポトーシス作用が支配的な場合、Aktの分解がアポトーシス過程の促進につながります。アポトーシス感受性細胞では、p53依存性シグナルにより、Aktが下方制御され、ストレスシグナルに反応して細胞が急速なアポトーシスを起こしやすくなります。ある特定の状況下では、Aktの活性化がp53の細胞死促進効果を乗り越え、細胞をアポトーシスから救出することがあります。AktはMdm2(Murine double minute 2)がんタンパク質のSer¹⁶⁶とSer¹⁸⁹をリン酸化して核内への移行を促進し、Mdm2は核内でp53を不安定化し、プロテアソーム系経路の分解を増加することも報告されています。

Multiple roles of activated Akt in cell survival and death

参考文献

Feng, J., et al. 2004. *J. Biol. Chem.* 279, 41189.
 Kawakami, Y., et al. 2004. *J. Biol. Chem.* 279, 47720.
 King F.W., et al. 2004. *Cell Cycle* 3, 634.
 Franke, T.F., et al. 2003. *Oncogene* 22, 8983.
 Zhou, B-B. S., and Sausville, E.A. 2003. *Prog. Cell Cycle Res.* 5, 413.
 Cantley, L.C. 2002. *Science* 296, 1655.
 Graff, J.R. 2002. *Expert Opin. Ther. Targets* 6, 103.
 Hill, M.M., and Hemmings B.A. 2002. *Pharmacol. Therap.* 93, 243.
 Liang, J., et al. 2002. *Nat. Med.* 8, 1153.
 Mitsiades, C.S., et al. 2002. *Oncogene* 21, 5673.
 Shiojima, I., and Walsh, K. 2002. *Circ. Res.* 90, 1243.
 Whiteman, E.L., et al. 2002. *Trends Endocrinol. Metab.* 13, 444.
 Yang, J., et al. 2002. *Nat. Struct. Biol.* 9, 940.
 Zhou, B.P., and Hung, M.C. 2002. *Semin. Oncol.* 29, 62.
 El-Deiry, W.S. 2001. *Nat. Cell Biol.* 3, E71.
 Martin, D., et al. 2001. *J. Neurochem.* 78, 1000.
 Mayo, L.D., and Donner, D.B. 2001. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 11598.
 Somerville, T.C.P., et al. 2001. *Blood* 98, 1374.
 Dimmeler, S., and Zeiher, A.M. 2000. *Circ. Res.* 86, 4.
 Obata, T., et al. 2000. *J. Biol. Chem.* 275, 36108.
 Toker, A., and Newton, A.C. 2000. *J. Biol. Chem.* 275, 8271.
 Datta, S.R., et al. 1999. *Genes Dev.* 13, 2905.
 Kandel E.S., and Hays, N. 1999. *Exp. Cell Res.* 253, 210.
 Ozes, O.N., et al. 1999. *Nature* 401, 82.
 Peterson, R.T., and Schreiber, S.L. 1999. *Curr. Biol.* 9, R521.
 Sabbatini P., and McCormick, F. 1999. *J. Biol. Chem.* 274, 24263.
 Alessi, D.R. et al. 1996. *EMBO J.* 15, 6541.
 Multiple roles of activated Akt in cell survival and death

本稿をご提供いただきましたメルク株式会社の皆様へ心より感謝申し上げます。

活性測定キット

品名	構成内容	使用目的	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Akt活性アッセイキット Akt Activity Assay Kit	<ul style="list-style-type: none"> Kinase Extraction Buffer Anti-Akt Protein A Agarose Beads GSK-3α Recombinant Protein/ATP Mixture Kinase Assay Buffer Anti-GSK-3α, Phospho-Specific (Ser21) 	ヒト、マウスおよびラットの細胞溶解液におけるAktの活性を特異的に検出するキットです。	CBC	124007	1キット	¥ 118,800		凍

ELISAキット

品名	適用種	測定範囲	特記事項	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
	サンプル	感度							
Akt (Total) ELISA	HU/MS/RAT 細胞溶解液	0.3-20ng/ml <0.1ng/ml	サンドイッチ法	DRG	EIA3996	96テスト	¥ 476,000		凍
Akt (pThr308), ELISA	HU/MS/RAT 細胞溶解液	0-100ユニット/ml <0.8ユニット/ml	サンドイッチ法	CBC	CBA004	1キット	¥ 119,900		凍
Akt (pSer473), ELISA		1.6-100ユニット/ml <0.8ユニット/ml	サンドイッチ法	DRG	EIA3997	96テスト	¥ 476,000		凍
	HU/MS/RAT 細胞溶解液	0-100ユニット/ml 0.8ユニット/ml	サンドイッチ法	CBC	CBA005	1キット	¥ 119,900		凍

タンパク質

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Akt (PKB) sub	(N-terminus)	SCP	A05-58	1mg	¥ 16,000		凍
Akt (Ser 473)	—	SCB	SC-24500	0.5mg	¥ 17,000		凍
Akt (SGK) sub	(N-terminus)	SCP	A08-58	1mg	¥ 16,000		凍
Akt1	Human (Recombinant, Full length, GST-tag)	SCP	A16-14G*	20 μ g	¥ 53,000		凍
Akt1	Human (Recombinant)	BMO	SE416-0005*	5 μ g	¥ 44,000		凍
Akt1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	A16-10G*	5 μ g	¥ 28,000		凍
Akt1	Human (Recombinant)	CBC	124006*	20 μ g	¥ 80,300		凍
Akt1, active	Human (Recombinant)	CLS	CRA004A	5 μ g	¥ 63,000		凍
Akt1, active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K001*	5 μ g	¥ 60,500		凍
Akt1, active	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	RSD	1775-KS-010*	10 μ g	¥ 66,000		凍
Akt1/PKB α	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2010A	5 μ g	¥ 60,000		凍
Akt1/PKB α , active	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, His-tag)	JNA	PR-324*	20 μ g	¥ 69,000		凍
Akt1/PKB α , active	Human	CL	CLPKA206*	5 μ g	¥ 155,000		凍
Akt1/PKB α , inactive	Human	BFG	PKBA-I020	20 μ g	¥ 71,000		凍
Akt1/PKB α , inactive	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, His-tag)	JNA	PR-325*	20 μ g	¥ 48,000		凍
Akt1/PKB α , inactive	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells)	CL	CLPKA207*	5 μ g	¥ 104,000		凍
Akt2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	A17-10H*	5 μ g	¥ 41,000		凍
Akt2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	A17-10G*	5 μ g	¥ 41,000		凍
Akt2, active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K002G*	5 μ g	¥ 60,500		凍
Akt2, active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K002*	5 μ g	¥ 60,500		凍
Akt2, active	Human (Recombinant, GST-tag)	CBC	124021	20 μ g	¥ 80,900		凍
Akt2/PKB β	Human (Recombinant)	BMO	SE247-0020*	20 μ g	¥ 61,000		凍
Akt2/PKB β	Human (Recombinant)	BFG	PKBB-A040	40 μ g	¥ 80,000		凍
Akt2/PKB β	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2010B	5 μ g	¥ 60,000		凍
Akt2/PKB β , active	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, His-tag)	JNA	PR-333*	100 μ g	¥ 69,000		凍
Akt3	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	A18-14G*	20 μ g	¥ 53,000		凍
Akt3	Human (Recombinant)	BMO	SE369-0020*	20 μ g	¥ 111,000		凍
Akt3	Human (Recombinant)	BMO	SE369-0005*	5 μ g	¥ 44,000		凍
Akt3	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	A18-10G*	5 μ g	¥ 41,000		凍
Akt3, active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K003*	5 μ g	¥ 60,500		凍
Akt3, active	Human (Recombinant, Recombinant, S. frugiperda)	CBC	124022	5 μ g	¥ 27,800		凍
Akt3/PKB γ	Human	BFG	PKBG-A020	20 μ g	¥ 80,000		凍
Akt3/PKB γ , active	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, His-tag)	JNA	PR-334*	20 μ g	¥ 69,000		凍

品番に印の付いた商品は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(通称カルタヘナ法)の使用規制対象品です。ご使用に際しては、規制に則し適切にお取り扱いください。最新の情報につきましては、*印の有無に関わらずご注文の前にコスモ・バイオ(株)までお問い合わせください。

インヒビター

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Akt Inhibitor	(Synthetic)	CBC	124005	1mg	¥ 30,200		凍
Akt Inhibitor 2	(Synthetic)	CBC	124008	1mg	¥ 62,900		凍
Akt Inhibitor 3	(Synthetic)	CBC	124009	1mg	¥ 62,900		凍
Akt Inhibitor 4	(Synthetic)	CBC	124011	1mg	¥ 25,000		凍
Akt Inhibitor 4	(Synthetic)	CBC	124011	5mg	¥ 86,500		凍
Akt Inhibitor 4	—	CBC	124015	1mg	¥ 25,000		凍
Akt Inhibitor 5, Triciribine	(Synthetic)	CBC	124012	1mg	¥ 38,900		凍
Akt Inhibitor 6, Akt-in	—	CBC	124013	2mg	¥ 37,600		凍
Akt Inhibitor 7, TAT Akt in	—	CBC	124014	2mg	¥ 68,200		凍
Akt Inhibitor 8, Isozyme-Selective, Akti-1/2	—	CBC	124018	1mg	¥ 32,800		凍
Akt Inhibitor 9, API-59CJ-Ome	—	CBC	124019	5mg	¥ 46,800		凍
Akt Inhibitor 10	—	CBC	124020	5mg	¥ 55,800		凍

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Akt Inhibitor 11	—	CBC	124028	5mg	¥ 50,000		☉
Akt Inhibitor 12, Isozyme-Selective, Akti-2	—	CBC	124029	2mg	¥ 52,900		☉
Akt Inhibitor 13, Isozyme-Selective, Akti2-1/2	—	CBC	124030	2mg	¥ 52,900		☉
Akt1/2 Inhibitor	—	BFG	PKI-AKT-005	5mg	¥ 85,000		

細胞周期パスウェイ

背景

細胞周期は多数のタンパク質群が外因性および内因性の刺激を複雑に交わらせることで制御されており、非常に複雑な過程を作り上げています(1)。細胞周期は主に5つの相(G0、G1、S、G2およびM期)に分けられ、チェックポイント機構によりDNA複製、DNA修復および分裂の過程が確実に制御されています。とある細胞周期相から次の周期相に影響を及ぼすシグナル伝達経路は、いつ細胞がDNA合成や増殖/増殖停止、DNA修復あるいはアポトーシスを起こすかを決定づける重要なものです。

DNA損傷に応じた細胞周期停止は、ゲノム整合性を維持するために細胞周期に用いられる機構として重要であり、ここでの細胞周期チェックポイントはDNA損傷後の細胞周期転移を抑制する制御機構として働きます。G1/S細胞周期チェックポイントでは、DNA合成相(S期)への細胞の経過を制御します。サイクリン依存性キナーゼであるCDK4/6-サイクリンDとCDK2-サイクリンEが、Rb-HDACやE2F-DP1を含む転写複合体とともに、このチェックポイントの制御に重要な機能を持っています(2)。

G2/M細胞周期チェックポイントでは、DNAが損傷を受けている場合は細胞が有糸分裂(M期)に入るのを阻止し、ここではCDK-1-サイクリンBが重要な役

割を果たしています(3)。DNAが損傷すると、DNA-PK、ATMおよびATRの活性化が起こり、この活性化によりこれらのプロテインキナーゼがp53をリン酸化します(4)。このリン酸化によりMDM2からp53が解離し、その結果転写活性が活性化してCDK1抑制タンパク質を合成します。さらに、DNA損傷の結果Chk1およびChk2が活性化することで、リン酸化してCDC25の活性を阻害し、その結果CDK1の活性化を阻止します。

細胞周期に関わるシグナル伝達経路にはさまざまな癌遺伝子や腫瘍抑制因子が取り込まれていて、そのためヒト癌における遺伝子変位の重要な研究対象となっています(5)。癌の形成や進行には細胞周期を制御する多くのタンパク質の欠損が関わっています。これらの中で重要な要素としては、p53、網膜芽細胞腫タンパク質(Rb)とその関連タンパク質、p107とRb2/p130、およびCDK阻害剤(p15、p16、p18、p19、p21、p27)が挙げられます。Rb(Rb/p16(INK4a)/サイクリンD1)およびp53(p14(ARF)/MDM2/p53)経路は腫瘍形成においてしばしば標的となる主な細胞周期制御経路であり、それぞれの経路で生じる変化は腫瘍型に依存しています(6)。

【参考文献】

1. Mercer, W. E.: Checking on the cell cycle. J Cell Biochem Suppl. 1998;30-31:50-4.
2. Bartek, J. et al.: Mammalian G1- and S-phase checkpoints in response to DNA damage. Curr Opin Cell Biol. 2001 Dec;13(6):738-47.
3. Stark, G. R. et al.: Analyzing the G2/M checkpoint. Methods Mol Biol. 2004;280:51-82.
4. Okorokov, A. L.: p53 in a crosstalk between DNA repair and cell cycle checkpoints. Cell Cycle. 2003 May-Jun;2(3):233-5.
5. Dash, B. C. et al.: Cell cycle checkpoint control mechanisms that can be disrupted in cancer. Methods Mol Biol. 2004;280:99-161.
6. Macaluso, M. et al.: Modulation of cell cycle components by epigenetic and genetic events. Semin Oncol. 2005 Oct;32(5):452-7.

Cosmo Bio would like to acknowledge and thank the SignalChem Pharmaceuticals, Inc. for providing Cell Cycle information presented here

活性測定キット

【メーカー：GBZ】

品名	構成内容	使用目的	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
カゼインキナーゼ2 アッセイキット1 CK2 assay kit	<ul style="list-style-type: none"> Assay Buffer directional insert casein purified CK2 sample Magnesium/ATP Cocktail 	カゼインキナーゼ2の活性に対するテスト物質の影響を評価したり、酵素の新しい基質の同定等、カゼインキナーゼ2や関連するセリンプロテインキナーゼの活性測定を行うキットです。	GLO112-01	1キット	¥ 85,000		凍

DuoSet® IC IP-Kinase Assay Kit

免疫沈降を応用した高感度のキナーゼアッセイキット！

使用目的

DuoSet® IC IP-Kinase Assay Kitは、ヒト、マウスまたはラットの細胞溶解液中の活性化Chk1とChk2の測定キットです。マイクロプレートに基づくこのアッセイは、放射活性やウェスタンブロット解析を用いずに、アガロースビーズが結合したキナーゼ特異的抗体による免疫沈降を介して、サンプル中のChk1またはChk2の活性を迅速に、簡単に測定できるツールです。

特長

- 特異性が高い
- 高感度
- ビーズを用いた免疫沈降
- 簡単・迅速に、定量測定が可能

構成内容

- ビーズ結合抗体
- 検出抗体
- 活性化キナーゼ

- ポジティブコントロール
- キナーゼ基質
- 発色試薬A
- 発色試薬B
- ストレプトアビジンマイクロプレート

HeLa 細胞抽出液中の免疫沈降したChk1キナーゼ活性の抑制

実験例

Active Chk1 Kinase DuoSet IC IP-Kinase Assay Kit (Cat.No.DYC1630) を用いて、HeLa細胞溶解液 (各500μg) 中の内因性Chk1のキナーゼ活性を、Chk1特異的インヒビターであるSB218078の濃度勾配においてアッセイした。

Chk1抗体を用いたウェスタンブロットによる免疫沈降において、同レベルのtotal Chk1の存在が確認された。

測定原理

step 1
免疫沈降

キナーゼ(黄色球)はビーズ結合抗体(オレンジ球と青色抗体)により捕捉

↓

2時間インキュベーション後、遠心(2000×g, 2分間)し、ビーズをベレット化して上清を除去

step 2
キナーゼ反応

ビーズをビオチン標識のキナーゼ基質(紫色)と一緒に再懸濁。振とうさせながら、15-60分間インキュベーション

↓

活性化したキナーゼは基質をリン酸化し、リン酸化された基質は溶液中に放出。

遠心し、ビーズをベレット化し、上清だけをストレプトアビジン(緑色球)がコートされたマイクロプレートに移す

step 3
検出操作

ビオチン標識の基質(紫色)は、ウェル上にコートされたストレプトアビジン(緑色球)に結合。

↓

続いて加えたHRP結合検出試薬(青色)がリン酸化された基質に特異的に結合。

step 4
発色・測定

HRP基質(TMB/H2O2)を加え、発色(このシグナルは特異的なキナーゼ活性を示す)

↓

反応停止溶液を加え、測定

- キナーゼ
- ビーズ結合抗体
- ビオチン標識基質
- ストレプトアビジン
- HRP基質

【メーカー：RSD】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Active Chk1 Kinase DuoSet® IC IP-Kinase Assay Kit	DYC1630	1キット	¥ 77,000		☉
Active Chk2 Kinase DuoSet® IC IP-Kinase Assay Kit	DYC1358	1キット	¥ 77,000		☉

タンパク質

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Aurora A	Human (Recombinant, His-Tag)	CBC	481413*	10µg	¥ 65,500		凍
Aurora A	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	A28-18G*	5µg	¥ 41,000		凍
Aurora A	Mouse (Recombinant, Full length, GST-tag)	SCP	A28-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
Aurora A	Human (Recombinant, Baculovirus in <i>S. frugiperda</i> , His-tag, S-tag)	CBC	481410	10µg	¥ 82,200		凍
Aurora A	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2013	5µg	¥ 60,000		凍
Aurora-A	Human (Recombinant)	BFG	PK-AURA-A010	10µg	¥ 77,000		凍
Aurora A, Active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, His-tag)	ECL	E-K056*	10µg	¥ 56,500		凍
Aurora B	Human (Recombinant, Baculovirus in <i>S. frugiperda</i> , His-tag, S-tag)	SCP	A31-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
Aurora B	Human (Recombinant, Baculovirus in <i>S. frugiperda</i> , GST-tag)	CBC	325901*	10µg	¥ 69,300		凍
Aurora-B	Human (Recombinant)	BFG	PK-AURB-A010	10µg	¥ 77,000		凍
Aurora B, Active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, His-tag)	ECL	E-K057*	10µg	¥ 56,500		凍
Aurora C	Human (Recombinant, Full length, GST-tag)	SCP	A33-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
Cdk1	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	C22-14G*	20µg	¥ 53,000		凍
Cdk1/Cyclin B	Human (Recombinant, Baculovirus in <i>S. frugiperda</i> , GST-tag)	CBC	325897	10µg	¥ 70,500		凍
Cdk1/CyclinA2	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	C22-18G*	5µg	¥ 53,000		凍
CDK1/cyclinB	Human (Recombinant)	BFG	PK-CDK1B-A010*	10µg	¥ 90,000		凍
Cdk2/Cyclin A2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	C29-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
Cdk2/CycA	Human (Recombinant, Baculovirus in <i>S. frugiperda</i> , GST-tag)	CBC	325898	10µg	¥ 70,500		凍
CDK2/cyclinA	(Recombinant)	BFG	PK-CDK2A-A010	10µg	¥ 80,000		凍
Cdk4	Human (Recombinant, <i>E. coli</i> , GST-tag)	SCP	C31-14G	20µg	¥ 53,000		凍
Cdk4/Cyclin D1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	C31-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
Cdk4/Cyclin D1	Human (Recombinant, Baculovirus in <i>S. frugiperda</i> , GST-tag)	CBC	325899	10µg	¥ 70,500		凍

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Cdk4/Cyclin D1	(Recombinant)	BFG	PK-CDK4D1-A010	10μg	¥ 77,000		凍
Cdk5	Human (Recombinant)	CBC	219459	250ユニット	¥ 70,100		凍
Cdk5	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST-tag)	SCP	C33-14G	20μg	¥ 53,000		凍
Cdk5/p25	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	C33-10G*	5μg	¥ 41,000		凍
Cdk5/p25, active	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, HisT-tag)	CSR	SDT-02-CP25*	10μg	¥ 30,000		凍
Cdk6	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2021	5μg	¥ 60,000		凍
Cdk6/cyclinD1	Human (Recombinant, Baculovirus in <i>S. frugiperda</i> , GST-tag)	CBC	325900	10μg	¥ 70,500		凍
Cdk6/cyclinD1	Human (Recombinant)	BFG	PK-CDK6D1-A010	10μg	¥ 90,000		凍
Cdk7/Cyclin H1/MNAT1	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, His-tag)	SCP	C36-10H*	5μg	¥ 41,000		凍
Cdk9/CyclinK	Human (Recombinant, Full length, GST-tag)	SCP	C40-10G*	5μg	¥ 41,000		凍
CdkN3 Protein	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	C01-34G*	20μg	¥ 53,000		凍
CHK1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	C47-10G*	5μg	¥ 41,000		凍
CHK1	Human (Recombinant, insect cells, His-tag)	CBC	220479	10μg	¥ 76,200		凍
CHK1, active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells)	ECL	E-K012*	5μg	¥ 60,500		凍
CHK2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	C48-10G*	5μg	¥ 41,000		凍
CHK2	(Recombinant)	BFG	PK-CHK2-H005	5μg	¥ 80,000		凍
CHK2, active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K013*	5μg	¥ 60,500		凍
CHK2, active	Human (Recombinant, HisT-tag)	CBC	220487	20μg	¥ 72,300		凍
c-Jun N-Terminal Kinase	RAT (Recombinant)	CBC	420105	20μg	¥ 95,500		凍
Cleaved Cdk5 Activator, p35	Bovine (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST-tag)	CBC	480741	250ユニット	¥ 64,500		凍
p53	Bovine (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST-tag)	SCP	P05-30G	50μg	¥ 53,000		凍
p53	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P05-30BG*	50μg	¥ 53,000		凍
p53 (1-342,C-Terminal Deletion)	Human (Recombinant)	CBC	506146*	5000ユニット	¥ 119,900		凍
p53 Activator, Cell-Permeable	(Synthetic)	CBC	506131	500μg	¥ 53,400		凍
p53, wild-type	Human (Recombinant)	CBC	506147*	5000ユニット	¥ 119,900		凍

品番に「印の付いた商品は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(通称カルタヘナ法)の使用規制対象品です。ご使用に際しては、規制に則し適切にお取り扱いください。最新の情報につきましては、*印の有無に関わらずご注文の前にコスモ・バイオ(株)までお問い合わせください。

インヒビター

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Aurora Kinase/Cdk Inhibitor	—	CBC	189406	5mg	¥ 62,700		冷
Aurora Kinase Inhibitor 2	—	CBC	189404	1mg	¥ 22,200		冷
Aurora Kinase Inhibitor 3	—	CBC	189405	1mg	¥ 23,700		冷
Casein Kinase II Inhibitor 3, TBCA	—	CBC	218710	5mg	¥ 30,300		冷
Cdk/Cyclin Inhibitory Peptide 3	—	CBC	238807	5mg	¥ 48,000		凍
Cdk/Cyclin Inhibitory Peptide 3, Cell-permeable	—	CBC	238808	1mg	¥ 48,000		凍
Cdk 1/2 Inhibitor III	—	ALX	270-442-M001	1mg	¥ 25,400		凍
Cdk Inhibitor, p35	(Synthetic)	CBC	219457	1mg	¥ 18,500		凍
Cdk/Crk Inhibitor	—	CBC	219491	1mg	¥ 34,800		凍
Cdk1 Inhibitor	(Synthetic)	CBC	217695	5mg	¥ 25,800		冷
Cdk1 Inhibitor 3	(Synthetic)	CBC	217697	1mg	¥ 22,800		冷
Cdk1 Inhibitor, CGP74514A	(Synthetic)	CBC	217696	5mg	¥ 33,400		凍
Cdk1 Inhibitor4, RO-3306	—	CBC	217699	5mg	¥ 48,000		冷
Cdk1/2 Inhibitor 2, NU6102	—	CBC	217713	1mg	¥ 15,400		冷
Cdk1/2 Inhibitor 3	—	CBC	217714	1mg	¥ 22,200		冷
Cdk1/5 Inhibitor	(Synthetic)	CBC	217720	5mg	¥ 30,500		冷
Cdk2/Cyclin Inhibitory Peptide 2	(Synthetic)	ALX	153-042-C500	500μg	¥ 37,700		凍
Cdk2 Inhibitor 1	(Synthetic)	CBC	219442	1mg	¥ 32,600		凍
Cdk2 Inhibitor 2	(Synthetic)	CBC	219445	1mg	¥ 9,100		凍
Cdk2 Inhibitor 3	—	CBC	238803	1mg	¥ 15,800		冷
Cdk2 Inhibitor 4	—	CBC	238804	5mg	¥ 38,700		冷
Cdk2/5 Inhibitor	(Synthetic)	CBC	219448	5mg	¥ 23,700		凍
Cdk2/9 Inhibitor	—	CBC	238806	5mg	¥ 47,300		冷
Cdk4 Inhibitor	(Synthetic)	CBC	219476	1mg	¥ 22,200		冷
Cdk4 Inhibitor 2	—	CBC	219477	5mg	¥ 32,100		冷
Cdk4 Inhibitor 3	—	CBC	219478	5mg	¥ 34,800		冷
Cdk9 Inhibitor 2	—	CBC	238811	1mg	¥ 43,000		冷
Chk2 Inhibitor	—	CBC	220485	500μg	¥ 49,100		凍
Chk2 Inhibitor 2	—	CBC	220486	1mg	¥ 22,700		冷

MAPキナーゼシグナリング

MAPキナーゼシグナリングの上流シグナルへの相乗的

応答

背景

Mitogen-Activated Protein (分裂促進因子活性化タンパク質: MAP) キナーゼは、進化的に保存されたプロリン指向性セリン/スレオニンキナーゼ群であり、さまざまな細胞外刺激に反応して活性化し、細胞表面から細胞核へのシグナル伝達を媒介します。これらのMAPキナーゼは、炎症、アポトーシス、発がん性形質転換、腫瘍細胞の浸潤そして転移など、細胞の生理学的、病理学的現象の制御を司っています。

MAPキナーゼ経路は、他のいくつかのシグナル伝達系と共同して、転写因子のリン酸化状態を特異的に変化させます。MAPキナーゼは全ての細胞型で発現していますが、細胞の種類ごとに、異なる生物学的反応を特異的に調節しています。

哺乳類では、異なる上流シグナルに共同して反応する4種類のMAPキナーゼカスケードが報告されています。MAPキナーゼは、MAPキナーゼ、MAPキナーゼキナーゼ (MEK, MKK) そしてMAPキナーゼキナーゼキナーゼ (MEKK, MKKK) から構成される3層構造のリン酸化リレー伝達系の1階層を成しています。このリレー系では、MKKKがMEKをリン酸化して活性化し、次にMEKがMAPキナーゼのリン酸化と活性化を行います。MEKは2重特異性酵素であり、それぞれに特異的なMAPキナーゼを基質として、セリン/スレオニンおよびチロシン残基の側鎖水酸基をリン酸化します。MEKは、その活性化ループにあるセリンまたはスレオニン残基のリン酸化により活性化されます。少なくとも11種のMAPキナーゼが存在することがわかっていますが、MEKは7種だけであり、MKKKは20種類が知られています。サイトカイン、成長因子、薬物やストレスシグナルなどのさまざまな刺激に対する細胞性応答において、特異的なMAPキナーゼ経路のカスケードが起こるのは、このMKKKの多様性によるものです。

これらのカスケードは、制御調節を受けて細胞増殖や細胞分化などに関与する一方、MAPキナーゼの無秩序な活性化は腫瘍形成をもたらす可能性があります。もっとも広く研究されているカスケードはERK1/ERK2 (p44/p42) MAPキナーゼ系です。一般的な活性化の仕組みは、EGFなどの成長因子により、受容体チロシンキナーゼが活性化することから始まります。この活性化によりアダプタータンパク質であるGrb2が結合し、次にGrb2によってSosが細胞膜にリクルートされます。SosはGDP-GTP交換反応によりRasを活性化します。このRas-GTPはセリン/スレオニンキナーゼであるRafに直接結合し、一時的なアンカー (膜固着) シグナルを生じます。Rafファミリーは、A-Raf, B-RafおよびRaf-1 (C-Raf) から構成され、低活性型または高活性型構造のどちらにおいても、14-3-3タンパク質と結合することで安定化されます。RafはHsp90および14-3-3と共に、タンパク質複合体として細胞中に存在します。活性化したRaf酵素は、2重特異性キナーゼであるMEKのSer²¹⁸とSer²²²をリン酸化して、活性化します。MEKは、卵母細胞の減数分裂による成熟過程において発現されるプロテインキナーゼのMos、またMEKK1によってもリン酸化を受けます。一般的に、MEK1はERKと結合し、スレオニンまたはチロシン残基をリン酸化した後、解離すると考えられています。1部位のリン酸化を受けたERKは活性MEK1と再結合し、2重リン酸化され、その活性化を完了します。活性化したMEKはERK1/ERK2のTEYモチーフのThr¹⁸³とTyr¹⁸⁵をリン酸化します。活性化したERKの主な標的はp90リボソームS6キナーゼ (RSK) と細胞質型フォスホリパーゼA₂です。また、ERKは核内へ移行し、転写因子Elk-1をSer³⁸³とSer³⁸⁹部位でリン酸化します。近年、類縁キナーゼとして、核内に存在するプロテインキナーゼERK3がクローン化されました。その触媒ドメインは、ERK1/ERK2と50%の相同性を有しますが、代表的なERKの基質のいずれに対してもリン酸化は行いません。

細胞内には通常、1種類の高活性型 (2重リン酸化型) ERK1またはERK2が存在し、これは非リン酸化型の1000倍もの高い活性を示します。また、細胞内には3種類の低活性型ERK、すなわち、非リン酸化型1種と、チロシンまたはスレオニン残基のどちらかにリン酸化を含む1重リン酸化型2種、が常に見られます。

JNK/SAPK (c-Jun N末端キナーゼ/ストレス応答性MAPキナーゼ) カスケードは、UV照射、熱ショック、炎症性サイトカインなどの刺激により活性化します。MAPキナーゼの活性化は、2種の低分子Gタンパク質であるRacおよびCdc42が司ります。活性化したCdc42はPAK65プロテインキナーゼに結合してこれを活性化します。活性化PAK65はMEKKを活性化し、続いて、SEK/JNKKがMEKKによるSer²¹⁹とSer²²³のリン酸化によって活性化します。そして、活性化SEK/JNKKはJNK/SAPKをTPYモチーフでリン酸化し、活性化したJNK/SAPKはc-JunのN末端領域に結合、Ser⁶³とSer⁷³をリン酸化します。活性化リン酸化部位はERKとJNKの間で保存されていますが、異なる2重特異性リン酸化モチーフ (JNKはTPY、ERKはTEY) 内に位置します。JNK/SAPKと古典的MAPキナーゼ群の間には40-45%の配列相同性があることがわかって

Map Kinase signaling cascade

います。

同じくMAPキナーゼファミリーの一員であるp38キナーゼは、酵母菌のMAPキナーゼであるHog-1と類似性を有します。哺乳類の細胞には、4種類のp38 MAPキナーゼのアイソフォームが存在しており、これらはp38 α (SAPK2a)、p38 β (SAPK2b)、p38 γ (SAPK3)、そしてp38 δ (SAPK4) と呼ばれます。p38 α とp38 β は、生理学的に最も重要かつ特性の知られているアイソフォームで、普遍的に分布している。p38 δ は主として精巣、脾臓、小腸やCD4+ Tリンパ球に見られ、p38 γ は筋組織で発現されています。p38 MAPキナーゼは、炎症性サイトカイン、エンドトキシン、浸透圧ストレスなどに応答して活性化されます。ERKとの相同性はおよそ50%です。上流のシグナル経路はよく理解されていませんが、二重特異性キナーゼであるMKK3によりp38がTGYモチーフ部位でリン酸化されると、下流経路の活性化が起こります。活性化された後、p38は核内へ移行し、ATF-2をリン酸化します。他のp38の標的として、熱ショックタンパク質のリン酸化と活性化に関与するMAPKAPK2や、MNK1、MNK2などが知られています。また、p38はRSKやMSKなどの多数の下流MAPキナーゼ活性化プロテインキナーゼをリン酸化します。

4番目のあまり研究の進んでいない哺乳類のMAPキナーゼは、高分子MAPキナーゼ1 (BMK1) または細胞外シグナル制御キナーゼ5 (ERK5) と呼ばれます。BMK1は成長因子やストレスに反応して活性化されます。BMK1シグナル伝達系の活性化は、正常時の細胞生存や細胞増殖、細胞分化だけでなく、発がん、心肥大、動脈硬化症などの疾患との関与が報告されています。BMK1は、EGF、BDNF、NGF、VEGF、FGF-2、フォルボールエステル、および酸化的ストレスにより活性化されます。ERK5経路のシグナル分子にはMEKK2/3、MEK5そしてERK5があります。MEK5はMEK1およびMEK2と類似するが、Raf-1によるリン酸化や活性化を受けません。BMK1は現在知られている唯一のMEK5の基質であるため、MEK5の効果は全て、BMK1を活性化することによって起こると考えられています。これまでに、筋細胞エンハンサー因子2 (MEF2)、Etsドメイン転写因子 (Sap1a)、Bad、血清グルココルチコイド誘導性キナーゼ (SGK) などがBMK1の基質として同定されています。

MAPキナーゼカスケードは高い特異性を示し、それぞれ独立した機能を持つが、カスケード間におけるシグナル伝達が見られることもあります。例えば、JNK/SAPKの活性化因子であるJNKKはp38も活性化できることが報告されており、その一方で、MKK3が活性化できるのはp38に限られ、JNK/SAPKには作用しません。MEKK1はJNK/SAPKカスケードのSEK/JNKK1を刺激しますが、p38の活性化に対しては僅かに影響を及ぼす程度です。上流のシグナリングにおいては、SosはERK経路のみを刺激し、JNKやp38カスケードには影響しません。また、哺乳類の細胞では、分裂促進因子によりERKの著明な活性化が起こるが、JNK/SAPKには作用しないことも重要な所見です。逆に、ストレスに曝された細胞では、ERKの活性に変化はなく、JNK/SAPK系だけが活性化されます。転写因子レベルでは、MAPキナーゼ3種全て (BMK1以外) によりATF-2がリン酸化および活性化されますが、c-JunおよびElk-1はERKとJNK/SAPKでしかリン酸化されません。しかし、これらの経路は全て、特定の外的ストレスに対し特有の転写活性を引き起こすことができます。

参考文献

Hitti, E., and Kotlyarov, A. 2007. Anti-Inflammatory Anti-Allergy Agents in Med. Chem. 6, 85-97
 Johnson, G.L., et al. 2005. Curr. Opin. Chem. Biol. 9, 325.
 Wong, C. H., et al. 2005. Dev. Biol. 286, 1.
 Hayashi, M., and Lee, J.D. 2004. J. Mol. Med. 82, 800.
 Murry, J. A., 2003. Curr. Opin. Drug. Discov. Develop. 6, 945.
 Pearson, G., et al. 2001. Endocrine Rev. 22, 153.
 Burack, W.R., and Sturgill, T.W. 1997. Biochemistry 36, 5929.
 Sagata, N. 1997. BioEssays 19, 13.
 Sivaraman, V.S., et al. 1997. J. Clin. Invest. 99, 1478.
 Tong, L., et al. 1997. Nat. Struct. Biol. 4, 311.
 Su, B., and Karin, M. 1996. Curr. Opin. Immunol. 8, 402.
 Cheng, M., et al. 1996. J. Biol. Chem. 271, 8951.
 Cobb, M.H., et al. 1996. Adv. Pharmacol. 36, 49.

Das, R., and Vonderhaar, B.K. 1996. Breast Cancer Res. Treat. 40, 141.
 Moriguchi, T., et al. 1996. Adv. Pharmacol. 36, 121.
 Winston, L.A., and Hunter, T. 1996. Curr. Biol. 6, 668.
 Larochelle, S., and Suter, B. 1995. Gene 163, 209.
 Lin, A., et al. 1995. Science 268, 286.
 Martin, G.A., et al. 1995. EMBO J. 14, 1970.
 Raingeand, J., et al. 1995. J. Biol. Chem. 270, 7420.
 Waskiewicz, A.J., and Cooper, J.A. 1995. Curr. Opin. Cell Biol. 7, 798.
 Avruch, J., et al. 1994. Trends Biochem. Sci. 19, 279.
 Davis, R.J., 1994. Trends Biochem. Sci. 19, 470.
 Han, J., et al. 1994. Science 265, 808.
 Kyriakis, J.M., et al. 1994. Nature 369, 156.
 Hibi, M., et al. 1993. Genes Dev. 7, 2135.

本稿をご提供いただきましたメルク株式会社の皆様へ心より感謝申し上げます。

プロテインチロシンキナーゼ PB-FRETキット

細胞増殖・分化・代謝およびアポトーシスの調節因子

背景

プロテインチロシンキナーゼは、タンパク質基質上でアデノシン三リン酸(ATP)のγ-リン酸基をチロシンのヒドロキシル基へ転移させる酵素です。プロテインチロシンキナーゼは細胞増殖、分化、代謝およびアポトーシスを調節するシグナル伝達パスウェイにおいて、重要な役割を果たします。

使用目的

FRET法によりチロシンキナーゼを検出するキットです。

構成内容

- Phycolink® PB-Mix Reagent
- [b-Peptid]
- [b-Phosphopeptide]
- Donor Control
- Acceptor Control
- Buffer Control
- Assay Buffer
- Microplate (96-well, white)
- CD-ROM
- TechNotes
- Certificate of Analysis

【メーカー：PZM】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
チロシンキナーゼPB-FRETキット Tyrosine Kinase PB-FRET Kit	PX020K	1キット	¥ 312,000		☉

AK(アデニル酸キナーゼ)酵素活性キット

使用目的

このキットはAK/PAK2活性を迅速に、簡便にそして高い再現性をもって測定するキットです。このアッセイはMBPおよびAK/PAK2または関連したタンパク質キナーゼの[γ-³²P]ATPによる活性化と反応に基づいています。

構成内容

- directional insert
- Magnesium/ATP Cocktail
- purified AK sample
- Assay Buffer
- MBP

【メーカー：GBZ】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
アデニル酸キナーゼ(AK)酵素活性キット AK assay kit	GLO111-01	1キット(50アッセイ)	¥ 111,000		☉

BCKDHキナーゼキット

使用目的

BCKDH (branched-chain α-keto acid dehydrogenase) キナーゼの活性に対するテスト物質の影響を評価したり、酵素の新しい基質の同定を行うキットです。アッセイは、ATPとBCKDH複合体とのキナーゼの反応を利用しています。

構成内容

- Assay and Dilution Buffer (ADBI)
- directional insert
- Magnesium/ATP Cocktail
- purified sample of BCKDH complex

適用種

Bovine

【メーカー：GBZ】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
BCKDHキナーゼキット BCKDH kinase kit	GLO125-01	1キット(50アッセイ)	¥ 111,000		☉

IP-Activity™ Srcキット

使用目的

細胞抽出液や部分精製試料など、さまざまなサンプルからAblチロシンキナーゼを免疫沈降させるキット。免疫沈降させたAblは活性を保持しており、活性試験や阻害剤アッセイ、免疫プロットなどに使用できます。

構成内容

- Anti-c-Abl (Ab-3) Mouse mAb
- Protein G Agarose
- 10X Wash Buffer
- Staurosporine

【メーカー：CBC】

品名	ターゲットキナーゼ	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
IP-Activity™ Src Kit	Src	CBA056	1キット	¥ 43,200		☉(凍)

ELISAキット

品名	適用種	測定範囲	特記事項	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
	サンプル	感度							
p38 MAP Kinase	HU	31.2-2000pg/ml 16pg/m	サンドイッチ法	CBC	CBA029	96ウェル	¥ 107,800		凍
p38 MAP Kinase, [pThr180/ Tyr182]	HU	1.6-100ユニット/ml <0.8ユニット/ml		CBC	CBA008	96ウェル	¥ 119,900		凍
p38 MAP Kinase α , [total]	HU		ディベロブメント	RSD	DYC8691B-2	2プレート	¥ 76,000		凍
p38 MAP Kinase α , [pThr180/ Tyr182]	HU/MS/RAT		ディベロブメント	RSD	DYC869-2	2プレート	¥ 76,000		凍
p38 MAP Kinase γ , [total]	HU		ディベロブメント	RSD	DYC1347-2	2プレート	¥ 76,000		凍
p38 MAP Kinase γ , [pThr183/ Tyr185]	HU/MS		ディベロブメント	RSD	DYC1664-2	2プレート	¥ 76,000		凍
p38 MAP Kinase σ , [pThr180/ Tyr182]	HU		ディベロブメント	RSD	DYC2124E	15プレート	¥ 318,000		凍
p38 MAP Kinase σ , [total]	HU		ディベロブメント	RSD	DYC1519-2	2プレート	¥ 76,000		凍

タンパク質

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
AK (Auto-Activated Protein Kinase)	Bovine (Native)	GBZ	GLO111-050	50ng	¥ 66,000		凍
MAPKAPK2 (active), Recombinant, CF	Human (Recombinant, Baculovirus, GST-tag)	RSD	3705-KS-010*	10 μ g	¥ 66,000		凍
MAPKAPK2, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E. coli</i> , GST-tag)	SCP	M40-14G	20 μ g	¥ 53,000		凍
MAPKAPK-2, Recombinant	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2039	5 μ g	¥ 60,000		凍
MAPKAPK-3, Recombinant	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2040	5 μ g	¥ 60,000		凍
MBPK-1 [Myelin Basic Protein Kinase-1]	Bovine (Native)	GBZ	GLO113-100	100ng	¥ 83,000		凍
MBPK-2 [Myelin Basic Protein Kinase-2]	Bovine (Native)	GBZ	GLO114-100	100ng	¥ 83,000		凍
MEKK3, Recombinant	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2043	5 μ g	¥ 60,000		凍
MKK3/MAP2K3, Recombinant	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2047	5 μ g	¥ 60,000		凍
MKK4/MAP2K4, Recombinant	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2048	5 μ g	¥ 60,000		凍
MNK2, Recombinant	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	M55-10G*	5 μ g	¥ 41,000		凍
Myelin Basic Protein [MBP]	Porcine	SCP	M42-51N	1mg	¥ 12,000		凍
Myelin Basic Protein [MBP]	Human (Recombinant, <i>E. coli</i> , GST-tag)	SCP	M42-54G	50 μ g	¥ 53,000		凍
Myelin Basic Protein [MBP]	Bovine	BMO	SE253-0100	100ng	¥ 90,000		凍
Myelin Basic Protein [MBP], (1-11)	Human	SCY	51916.001	1mg	¥ 14,000		凍
Myelin Basic Protein [MBP], (68-84)	Guinea Pig (Synthetic)	BAC	H-6875.0001	1mg	¥ 34,000		凍
Myelin Basic Protein [MBP], (83-99)	Bovine (Synthetic)	BAC	H-4306.0001	1mg	¥ 76,000		凍
Myelin Basic Protein [MBP], (87-99)	Human	SCY	52278.001	1mg	¥ 14,000		凍
p38 α , Recombinant	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2052	5 μ g	¥ 60,000		凍
p38 α , Recombinant	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	M39-10G*	5 μ g	¥ 41,000		凍
p38 α , Recombinant	Human (Recombinant, <i>E. coli</i>)	SCP	M39-14U	20 μ g	¥ 53,000		凍
p38 α , Recombinant	Human (Recombinant, <i>E. coli</i> , GST-tag)	SCP	M39-14G	20 μ g	¥ 53,000		凍
p38 β , Recombinant	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	M36-10G*	5 μ g	¥ 41,000		凍
p38 β , Recombinant	Human (Recombinant, <i>E. coli</i> , GST-tag)	SCP	M36-14G	20 μ g	¥ 53,000		凍
p38 γ , Recombinant	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	M37-14G*	20 μ g	¥ 53,000		凍
p38 γ , Recombinant	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	M37-10G*	5 μ g	¥ 41,000		凍
p38 δ , Recombinant	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	M38-14G*	20 μ g	¥ 53,000		凍
p38 δ , Recombinant	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	M38-10G*	5 μ g	¥ 41,000		凍

品番に「印の付いた商品は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(通称カルタヘナ法)の使用規制対象品です。ご使用に際しては、規制に則し適切にお取り扱いください。最新の情報につきましては、*印の有無に関わらずご注文の前にコスモ・バイオ(株)までお問い合わせください。

インヒビター

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
MAP Kinase Cascade Inhibitor Set	(Synthetic)	CBC	444185	1セット	¥ 75,400		凍
MAP Kinase Inhibitor Set	(Synthetic)	CBC	444180	1セット	¥ 74,800		凍
MAP Kinase Inhibitor Set	—	BFG	PKI-MAP-250	5 $\times$ 50 μ l	¥ 72,000		凍
MAP Kinase Inhibitor Set 2	(Synthetic)	CBC	444190	1セット	¥ 66,500		凍
MAP3K12 binding inhibitory protein 1	(Recombinant, <i>E. coli</i>)	GNW	CB-10-288-22248F	100 μ g	¥ 61,000		凍
MAP3K12 binding inhibitory protein 1	(Recombinant, <i>E. coli</i>)	GNW	CB-10-288-22248F	50 μ g	¥ 39,000		凍
MAPK2 Kinase Inhibitor (Hsp25 kinase inhibitor)	(Synthetic)	SMQ	SIH-120A	1mg	¥ 20,000		凍
MAPKAP Kinase 2 Inhibitor	(Synthetic)	SCB	SC-3091	0.5mg	¥ 17,000		凍
MEK Inhibitor 1	—	CBC	444937	1mg	¥ 25,000		凍
MEK Inhibitor 2	(Synthetic)	CBC	444938	5mg	¥ 21,400		凍
MEK Inhibitor Set	(Synthetic)	CBC	453710	1セット	¥ 45,900		凍
MEK1 Derived Peptide Inhibitor 1	(Synthetic)	ASI	60185-5	5mg	¥ 52,000		凍
MEK1 Derived Peptide Inhibitor 1	(Synthetic)	ASI	60185-1	1mg	¥ 13,000		凍
p38 MAP Kinase Inhibitor	(Synthetic)	CBC	506126	500 μ g	¥ 25,400		凍
p38 MAP Kinase Inhibitor	—	ALX	270-328-C500	500 μ g	¥ 36,000		凍

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
p38 MAP Kinase Inhibitor 3	(Synthetic)	CBC	506121	1mg	¥ 32,100		☉
p38 MAP Kinase Inhibitor 5	—	CBC	506156	1mg	¥ 39,200		凍
p38 MAP Kinase Inhibitor 6, JX401	—	CBC	506157	5mg	¥ 36,700		凍

JNK/SAPKパスウェイ

炎症シグナル伝達分子

背景

JNK/SAPKはMAPKファミリーメンバーで、当初、細胞死応答に関連したストレス活性化キナーゼとして同定されました(1)。最近になって、JNK/SAPKが更なる細胞機能を持ち、細胞の増殖や分化、生存において重要な役割を果たしていることが明らかになってきました。

JNK/SAPKはJNK/SAPKシグナル伝達経路における重要な分子であり、多くの環境ストレス、炎症サイトカイン、成長因子やGPCRアゴニストがこの標的や経路を活性化しうる分子群となっています(2)。

さまざまな環境刺激が細胞膜上でRhoファミリー(Rac、Rhoおよびcdc42)のsmall GTPaseに影響を及ぼし、次いでMEKK、ASK1、TAK1/AB1またはMLK3のような膜近位タンパク質分子の活性化を導きます。それからこれらのプロテインキナーゼが、JNK/SAPKファミリーメンバーの活性化を媒介す

るMKK4/7をリン酸化して活性化します(3)。JNK/SAPKファミリーには3つのアイソフォーム、JNK1、JNK2およびJNK3があります。活性化されたJNK/SAPKは核に転座することができ、そこで、c-Jun、ATF-2、SMAD4、p53およびElk1を含む多数の転写因子の活性を調節しています。

酸化ストレスの結果として生じるJNK/SAPK調節障害は、アルツハイマー病(AD)の症例に見られる細胞骨格タンパク質のリン酸化量の増加に大きく関与しています(4)。重症のADを持つ患者それぞれの脳海馬および皮質領域では、神経原線維変化、老人斑神経突起、神経絨毛糸および顆粒空泡変性構造(GVD)などの神経原線維変性に際して活性化されたリン酸化JNK/SAPKのみが局在化されるようになり、これはtau陽性神経原線維病変と完全に重なり合う結果となっています。

参考文献

- Basu, S. *et al.*: Stress signals for apoptosis: Ceramide and c-Jun kinase. *Oncogene*. 1998 Dec 24;17(25):3277-85.
- Nishina, H. *et al.*: Physiological roles of SAPK/JNK signaling pathway. *J Biochem(Tokyo)*. 2004 Aug;136(2):123-6.
- Wada, T. *et al.*: Stress Kinase MKK7: Savior of cell cycle arrest and cellular senescence. *Cell Cycle*. 2004 May;3(5):577-9.
- Zhu, X. *et al.*: Activation and redistribution of c-Jun N-terminal kinase/stress activated protein kinase in degenerating neurons in Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2001 Jan;76(2):435-41.

Cosmo Bio would like to acknowledge and thank the SignalChem Pharmaceuticals, Inc. for providing JNK/SAPK pathway information presented here

活性測定キット

【メーカー：CBC】

品名	構成内容	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
JNK活性イムノアッセイキット JNK Activity Immunoassay Kit	・ JNK抽出バッファー ・ Protein Aセファロース ・ Kinaseアッセイバッファー ・ JNK特異的抗体 ・ c-Junタンパク/ATP mixture ・ c-Junリン酸化タンパク抗体 (Rabbit)	420115	1キット(40アッセイ)	¥ 118,800		凍

ELISAキット

品名	適用種	測定範囲	特記事項	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
	サンプル	感度							
JNK [Total]	HU/MS/RAT		ディベロブメント	RSD	DYC1776-2	2プレート	¥ 76,000		☉
JNK, Pan Specific [Total]	HU		ディベロブメント	RSD	DYC1205E	15プレート	¥ 318,000		☉
JNK, phospho	HU/MS/RAT		ディベロブメント	RSD	DYC1387-2	2プレート	¥ 76,000		☉
JNK, phospho	HU		ディベロブメント	RSD	DYC1387E	15プレート	¥ 318,000		☉
JNK1 [Total]	HU/MS/RAT		ディベロブメント	RSD	DYC1776E	15プレート	¥ 318,000		☉
JNK1/2, [pThr183/pTyr185]	HU		サンドイッチ法	CBC	CBA007	96ウェル	¥ 119,900		☉
JNK2 [Total]	HU/MS/RAT		ディベロブメント	RSD	DYC1846E	15プレート	¥ 318,000		☉
JNK2 [Total], phospho	HU/MS/RAT		ディベロブメント	RSD	DYC1846-2	2プレート	¥ 76,000		☉
JNK2, [pThr183/pTyr185]	HU/MS/RAT		ディベロブメント	RSD	DYC2236-2	2プレート	¥ 76,000		☉
JNK2, [pThr183/pTyr185]	HU		ディベロブメント	RSD	DYC2236E	15プレート	¥ 318,000		☉

タンパク質

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
c-Jun N-Terminal Kinase	Rat (Recombinant)	CBC	420105	20µg	¥ 95,500		凍
JNK	Mouse (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	M33-10G	5µg	¥ 41,000		凍
JNK1	Human (Recombinant)	SCB	SC-4061	50µg	¥ 31,000		凍
JNK1	Mouse (Recombinant)	CBC	420137	5µg	¥ 49,300		凍
JNK1	Mouse (Recombinant, <i>E. coli</i> , GST-tag)	SCP	M33-14G	20µg	¥ 53,000		凍
JNK1	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2035	5µg	¥ 60,000		凍
JNK1, active	Mouse (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K075G	5µg	¥ 60,500		凍
JNK1, active	Mouse (Recombinant, Baculovirus, GST-tag)	RSD	1776-KS-010	10µg	¥ 66,000		凍
JNK1s2	Human (Recombinant, insect cells)	BMO	SE510-0020	20µg	¥ 63,000		凍
JNK2	Rat (Recombinant, <i>E. coli</i> , GST-tag)	SCP	M34-14G	20µg	¥ 53,000		凍
JNK2 (1-424)	Human (Recombinant)	SCB	SC-4062WB	10µg	¥ 17,000		凍
JNK2/SAPK1	Human (Recombinant)	BFG	PK-JNK2-A100	100µg	¥ 96,000		凍

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
JNK2/SAPK1	Human	BLG	30-A-216	1µg	¥ 20,000		冷
JNK2/SAPK1	Human (Recombinant)	CL	CLPKA216	100µg	ご照会		冷
JNK2/SAPK1	Mouse (Recombinant)	BCH	Z5010403	200µg	¥ 393,600		冷
JNK2a-1	Human	BLG	30-A-220	10µg	¥ 53,000		冷
JNK2a-2	Human	BLG	30-A-314	10µg	¥ 53,000		冷
JNK2α1	Human	BLG	30-A-220	2µg	¥ 20,000		冷
JNK2α1	Human	BLG	30-A-314	2µg	¥ 20,000		冷
JNK2α1, active	Mouse (Recombinant)	CLS	CRJ001A	10µg	¥ 88,000		
JNK2α2	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , His-tag)	CBC	420124	100µg	¥ 80,300		凍
JNK2α2, active	Mouse (Recombinant)	CLS	CRJ002A	10µg	¥ 88,000		
JNK2α2, active	Mouse (Recombinant)	BMO	SE266-0010	10µg	¥ 65,000		凍
JNK2α2/SAPK1a, active	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , His-tag)	JNA	PR-326	100µg	¥ 69,000		凍
JNK3	Mouse (Recombinant)	BMO	SE320-0005	5µg	¥ 43,000		凍
JNK3	Mouse (Recombinant)	BFG	PK-JNK3-A010	10µg	¥ 77,000		
JNK3	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST-tag)	SCP	M35-14G	20µg	¥ 53,000		凍
JNK3	Mouse (Recombinant)	CBC	325884	10µg	¥ 70,500		凍

インヒビター

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
JNK Inhibitor 1 (D-stereoisomer)	(Synthetic)	ALX	168-010-R025	25µl	¥ 18,200		凍
JNK Inhibitor 1 (L-Stereoisomer)	—	KAM	BC-237	200µl	¥ 87,000		凍
JNK Inhibitor 1 (L-stereoisomer) L-TAT Control Peptide for L-JNK Inhibitor 1	—	ALX	168-009/1-R050	50µl	¥ 7,300		凍
JNK Inhibitor 1, (L) -Form, Cell Permeable, Negative Control	(Synthetic)	CBC	420118	1mg	¥ 28,800		凍
JNK Inhibitor 1, (L) -Form, Cell Permeable, Negative Control	(Synthetic)	CBC	420116	1mg	¥ 54,200		凍
JNK Inhibitor 2	(Synthetic)	CBC	420119	5mg	¥ 17,300		凍
JNK Inhibitor 2, Negative Control	(Synthetic)	CBC	420123	1mg	¥ 14,500		凍
JNK Inhibitor 3, Cell-Permeable	(Synthetic)	CBC	420130	1mg	¥ 47,300		凍
JNK Inhibitor 3, Cell-Permeable, Negative Control	(Synthetic)	CBC	420131	1mg	¥ 47,300		凍
JNK Inhibitor 5	—	CBC	420129	5mg	¥ 35,400		凍
JNK Inhibitor 6, Ti-Jip 153-163	—	CBC	420133	2mg	¥ 33,400		冷
JNK Inhibitor 7, Tat-Ti-Jip 153-163' C	—	CBC	420134	2mg	¥ 51,500		冷
JNK Inhibitor 8	—	CBC	420135	5mg	¥ 40,400		凍

ERK/MAPKパスウェイ

背景

ERK経路には、Ras、c-Raf、MEK1/2、ERK1/2 (ERKs)、Rsk1/2/3や転写因子 (ElkやEtsなど) を含む多くのシグナル伝達タンパク質が関わっています(1)。ERKファミリーメンバーは、MAP/ERKキナーゼやMEKに分裂促進因子や他の刺激に反応してチロシン残基やスレオニン残基をリン酸化することで活性化されます (ERKはまた、セリン/スレオニン残基を自己リン酸化する能力も持っています)。

ERKは転写因子、プロテインキナーゼやフォスファターゼ、細胞骨格因子、アポトーシス調節因子、また多くの他のシグナル伝達分子を含む多数の下流分子をリン酸化することにより、分裂促進シグナルに応答します(2)。これらの基質の多くは核に局在化しており、他の基質がサイトソルや他の細胞オルガネラに存在している一方で、刺激による転写調節に関与していると考えられています。

トランスフォーミング因子は、細胞増殖の誘発にERK/MAPK経路を利用します。ERK経路は多くのヒトの腫瘍においてしばしばアップレギュレーション

されており、それ自身が抗癌剤開発の魅力的な研究対象となっています(3)。例えば、B-RafあるいはN-Rasのどちらかにおいて変異が活性化すると、多くの皮膚メラノーマにおいてERK/MAPK経路の活性化が起こります(4)。ERK/MAPK経路を阻害するとBcl-2ファミリーメンバーのBadおよびBimが脱リン酸化され、カスパーゼが活性化され、最終的にはアポトーシスの誘導を通じてメラノーマ細胞を消滅させます。

ERK経路を特異的に遮断することにより複雑な悪性表現型の獲得に多くの役割を持ち、これには腫瘍細胞の抗増殖効果ばかりでなく抗転移および抗血管新生効果も期待されています。最近ERK経路の分子を標的とする有力な小分子阻害剤群が開発され、そのうちのいくつかは臨床試験段階に達しています(5)。

参考文献

- Rubinfield, H. *et al*: The ERK cascade: A prototype of MAPK signaling. *Mol Biotechnol*. 2005 Oct;31(2):151-74.
- Yoon, S. *et al*: The extracellular signal-regulated kinase: Multiple substrates regulate diverse cellular functions. *Growth Factors*. 2006 Mar;24(1):21-44.
- Reddy, K. B. *et al*: Role of MAP kinase in tumor progression and invasion. *Cancer Metastasis Rev*. 2003 Dec;22(4):395-403.
- Panka, D. J. *et al*: Targeting the mitogen-activated protein kinase pathway in the treatment of malignant melanoma. *Clin Cancer Res*. 2006 Apr 1;12(7 Pt 2):2371s-2375s.
- Kohn, M. *et al*: Targeting the ERK signaling pathway in cancer therapy. *Ann Med*. 2006;38(3):200-11.

Cosmo Bio would like to acknowledge and thank the SignalChem Pharmaceuticals, Inc. for providing ERK/MAPK pathway information presented here

ROCKアッセイ

細胞または組織ライセート中のROCKの活性レベルを測定

背景

Rho結合型キナーゼ (ROCK) はRhoシグナルを介して、アクチンフィラメントの集合と収縮性の一因となる基質のリン酸化によってアクチン細胞骨格を再編成します。ROCKは、MYPT1のスレオニン696の部位で特異的にリン酸化されるため、ミオシンホスファターゼは不活化し、MLC20のリン酸化含量が増加します。セルバイオラボ社のROCK活性アッセイキットは、放射性物質を用いずに細胞または組織ライセート中のROCKの活性レベルを測定するキットです。イムノブロットキットは、少量サンプルで、またELISAキットはハイスループットでROCK活性を測定するのに便利です。

特長

- 非RIアッセイで安心です。
- イムノブロットとELISAの2通りのフォーマットをご用意しています。
- ポジティブコントロールとして活性型ROCK-IIが誘導されます。

構成内容

【活性アッセイキット】

- ROCK基質 (リコンビナントMYPT1) コート済みプレート
- キナーゼバッファー (10×)
- ATP試薬
- MYPT1リン酸化抗体
- 二次抗体 (HRP標識)
- 活性型ROCK-II
- アッセイ希釈用試薬
- 洗浄バッファー (10×)
- 基質試薬
- 停止液

【イムノブロットキット】

- ROCK基質 (リコンビナントMYPT1)
- キナーゼバッファー (10×)
- ATP試薬
- MYPT1リン酸化抗体
- 二次抗体 (HRP標識)
- 活性型ROCK-II

活性測定キット

【メーカー：CBL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
96-Well ROCK Activity Assay Kit	STA-416	96アッセイ	¥ 154,000		☉
ROCK Activity Immunoblot Kit	STA-415	20アッセイ	¥ 109,000		☉

ELISAキット

品名	適用種 サンプル	測定範囲 感度	特記事項	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ERK 1, [total]	HU		ディベロブメント	RSD	DYC1940-2	2プレート	¥ 76,000		☉
ERK 1, [total]	HU		ディベロブメント	RSD	DYC1940E	15プレート	¥ 318,000		☉
ERK 1, phospho	HU/MS/RAT		ディベロブメント	RSD	DYC1825-2	2プレート	¥ 76,000		☉
ERK 1/2	HU	31.2-2000pg/ml < 16pg/ml	サンドイッチ法	CBC	CBA032	96ウェル	¥ 107,800		☉
ERK 1/2, [pThr185/Tyr187]	HU	1.6-100U/ml < 0.8U/ml	サンドイッチ法	CBC	CBA006	96ウェル	¥ 119,900		☉
ERK 1/2, phospho	HU/MS/RAT		ディベロブメント	RSD	SUV1018	1キット	¥ 110,000		☉
ERK 1/2, phospho	HU		ディベロブメント	RSD	DYC1018E	15プレート	¥ 318,000		☉
ERK 1/2, phospho	HU/MS/RAT		ディベロブメント	RSD	DYC1018-2	2プレート	¥ 76,000		☉
ERK 2, [pThr185/Tyr187]	HU/MS/RAT		ディベロブメント	RSD	DYC1483-2	2プレート	¥ 76,000		☉
ERK 2, [total]	HU/MS/RAT		ディベロブメント	RSD	DYC1230B-2	2プレート	¥ 76,000		☉
ERK 2, [total]	HU/MS/RAT		ディベロブメント	RSD	DYC1230B-E	15プレート	¥ 318,000		☉
RSK 1, [pSer380]	HU		ディベロブメント	RSD	DYC892-2	2プレート	¥ 76,000		☉
RSK, Pan, [pSer221]			ディベロブメント	RSD	DYC3408-2	2プレート	¥ 76,000		☉
RSK, Pan, [pSer380]	HU		ディベロブメント	RSD	DYC889-2	2プレート	¥ 76,000		☉

図1. ROCK-II活性アッセイキット

(左) 10μgの活性型ROCK-IIを90μgの1×キナーゼ反応バッファーに加え、30℃で60分間反応させた。
(右) 2.5ngの活性型ROCK-IIを90μgの1×キナーゼ反応バッファーに加え、30℃で各時間反応させた。
MYPT1基質のリン酸化をMYPT1 (Thr696) 抗体で検出した。測定は添付のプロトコールに従った。

図2. ROCK-II活性測定イムノブロットアッセイ

10ngの活性型ROCK-IIを含む1×キナーゼバッファー25μl、0.2mM ATPを含む1×キナーゼバッファー50μl、リコンビナントMYPT1を30℃で30分間反応させた。キナーゼの反応を、25μgの4×SDS-PAGEサンプルバッファーを加えて停止した。各レーンに下記サンプルをロードし、SDS-PAGEを行った。MYPT1のリン酸化の検出は、MYPT1 (Thr696) 抗体を用いて行った。
レーン1, 3, 5, 7: キナーゼなし (ネガティブコントロール)、
レーン2, 4, 6, 8: キナーゼ200ng, 100ng, 50ng, 25ng。

タンパク質

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ERK1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells)	SCP	M29-10U*	20µg	¥ 104,000		凍
ERK1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells)	SCP	M29-10U*	5µg	¥ 41,000		凍
ERK1, active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K016*	5µg	¥ 36,500		凍
ERK1, active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells)	ECL	E-K073U*	5µg	¥ 60,500		凍
ERK1, active	Human (Recombinant)	BFG	PK-ERK1-A010	10µg	¥ 77,000		凍
ERK1, inactive	Human (Recombinant)	BFG	PK-ERK1-I020	20µg	¥ 58,000		凍
ERK2	Human (Recombinant, <i>E. coli</i>)	SCP	M28-14U	20µg	¥ 53,000		凍
ERK2	Human (Recombinant, <i>E. coli</i> , GST-tag)	SCP	M28-14G	20µg	¥ 53,000		凍
ERK2	Human (Recombinant, Full length, <i>E. coli</i> , GST-tag)	SCP	M28-10G	5µg	¥ 41,000		凍
ERK2, active	Human (Recombinant, <i>E. coli</i>)	RSD	1230-KS-010	10µg	¥ 66,000		凍
ERK2/MAPK1, active	Human (Recombinant)	BFG	PK-ERK2-A005	5µg	¥ 77,000		凍
ERK2/MAPK1, inactive	Human (Recombinant)	BFG	PK-ERK2-I010	10µg	¥ 58,000		凍
ERK5	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2024D	5µg	¥ 60,000		凍
PAK 4, active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K027*	5µg	¥ 60,500		凍
PAK 7, active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K028*	5µg	¥ 60,500		凍
PAK1	Human (Recombinant)	BFG	PK-PAK1-A010	10µg	¥ 77,000		
PAK1	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P02-17G*	20µg	¥ 78,000		凍
PAK1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P02-14G*	20µg	¥ 53,000		凍
PAK1/CDC42	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P02-10G*	10µg	¥ 60,000		凍
PAK2	Human (Recombinant)	BFG	PK-PAK2-A010	10µg	¥ 77,000		
PAK3	Mouse (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P04-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
PAK4	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P05-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
PAK7	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P07-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
ROCK1	Human	CBC	557527	5µg	¥ 49,300		凍
ROCK1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	R10-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
ROCK1, active	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells)	RSD	4590-KS-010*	10µg	¥ 66,000		凍
ROCK2	Human	CBC	557529	5µg	¥ 49,300		凍
ROCK2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	R11-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
RSK1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	R15-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
RSK1, active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K048*	5µg	¥ 60,500		凍
RSK2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	R17-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
RSK3	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	R16-10G*	5µg	¥ 41,000		凍

品番に*印の付いた商品は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(通称カルタヘナ法)の使用規制対象品です。ご使用に際しては、規制に則し適切にお取り扱いください。最新の情報につきましては、*印の有無に関わらずご注文の前にコスモ・バイオ(株)までお問い合わせください。

インヒビター

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ERK Activation Inhibitor 1, Cell-Permeable	Synthetic	CBC	328000	1mg	¥ 33,400		凍
ERK Activation Inhibitor 2, Cell-Permeable	Synthetic	CBC	328005	1mg	¥ 44,500		凍
Erk Inhibitor		CBC	328006	5mg	¥ 21,500		冷
Erk Inhibitor		BFG	PKI-ERK-005	5mg	¥ 61,000		
Erk Inhibitor 2		CBC	328007	1mg	¥ 37,600		冷
Erk Inhibitor 2, Negative Control		CBC	328008	1mg	¥ 37,600		冷
ERK Inhibitor 3		CBC	328009	5mg	¥ 24,000		冷
PKA inhibitor	Synthetic	SCB	SC-3010	0.5mg	¥ 17,000		冷
PKA Inhibitor Substrate	Synthetic	ASI	24507	5mg	¥ 156,000		凍
PKA Inhibitor Substrate	Synthetic	ASI	24506	1mg	¥ 39,000		凍
ROCK Inhibitor	Synthetic	SCB	SC-3536	1mg	¥ 27,000		凍

プロテインキナーゼC パスウェイ

プロテインキナーゼCアイソザイム：腫瘍化を引き起こす可能性を秘めた分子スイッチ

背景

タンパク質のリン酸化および脱リン酸化は、シグナル伝達経路の分子スイッチとしての機能を果たしています。遺伝子発現や細胞増殖、分化など細胞におけるさまざまな過程は、リン酸化酵素であるプロテインキナーゼや、脱リン酸化酵素フォスファターゼの複雑な相互作用により制御されています。これらのスイッチの誤動作は、がん、アポトーシス、神経変性疾患につながる可能性があります。そのため、これらの反応系を制御することは疾患の治療法として大きなターゲットとなっています。

プロテインキナーゼC (PKC) は、普遍的に存在するリン脂質依存性セリン/スレオニンキナーゼであり、細胞増殖、分化そしてアポトーシス関連のシグナル伝達に関与しています。類縁のPKCアイソザイムが少なくとも11種類以上報告されており、これらは構造、生化学的特性、組織分布、細胞内局在性、基質特異性の点で異なります。これらPKCアイソザイムは、在来型 (α , β_1 , β_2 , γ)、新型 (δ , ϵ , η , θ , μ)、非典型 (ζ , λ) に分けられます。在来型PKCアイソザイムはCa²⁺依存性ですが、新型および非典型は活性化にCa²⁺を必要としません。ζおよびλ以外のPKCアイソザイムは全て、イノシトールリン脂質の受容体介在性加水分解の生成物であるジアシルグリセロール (DAG) により活性化されます。個々のPKCアイソザイム、およびそれらが多種多様な効果を発揮するための分子経路の具体的な機能はまだ明確ではありませんが、細胞の成長および増殖における役割を果たしていることには異論の余地はありません。PKCアイソザイムは、細胞周期の開始や終了、そしてG₁、G₂チェックポイントなど、細胞周期移行の重要なステップにおいて、正負の制御を行っています。

PKCの触媒ドメインには、他のプロテインキナーゼと同様、ATP結合部位などの配列が含まれます。Ca²⁺結合部位はα、β、γアイソザイムの調節ドメインのみに見られます。α、β、γアイソザイム調節ドメインのN末端側の半分には、保存領域であるC1およびC2領域が存在し、これらは酵素活性の調節において極めて重要な役割を担います。触媒ドメインは高度に保存されたC3およびC4領域から構成されます。C3領域にはATP結合のためのコンセンサス (共通) 配列が存在するのに対し、C4領域は基質タンパク質の結合に関与します。その他のPKCアイソザイム (δ , ϵ , η , θ , μ , ζ , λ) はC2領域を持たず、活性化にCa²⁺を必要としません。

Tissue and Cell Specific Distribution of Protein Kinase C Isozymes

Tissue/Cells	PKC α	PKC β_1	PKC β_2	PKC γ	PKC δ	PKC ϵ	PKC η	PKC ζ	PKC θ	PKC λ
Brain	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fibroblasts	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Heart	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Intestine					+					+
Kidney	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Liver	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Ling	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
B lymphocytes	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
T lymphocytes	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Neutrophils	+	+	+	-						
Ovary	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Pancreas	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Placenta					+					+
Platelets	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Retina	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Smooth muscle	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Spleen	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Testis	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Thymus	+	+	+	-						
Uterus					+					+

+ = present; - = absent; blank = unknown

無刺激の状態では、大部分のPKCは細胞質中に存在します。この時、PKCの調節ドメインにある偽基質領域が触媒ドメインと接しており、基質が触媒部位と結合するのを阻害しています。ホルモンまたは他のエフェクター分子が細胞膜受容体に結合すると、Gタンパク質依存的に、フォスホリパーゼC (PLC) またはフォスホリパーゼA₂ (PLA₂) の活性化が起こります。活性化したPLCはフォスファジリノシトール-4,5-ビスリン酸 (PIP₂) を加水分解し、DAGとイノシトール-1,4,5-3リン酸 (IP₃) を生成します。IP₃は内因性Ca²⁺の放出を引き起こし、そのCa²⁺が細胞質型PKCへ結合することでPKCのリン脂質結合部位が現れます。Ca²⁺が結合することで、PKCは細胞膜へと移行し、DAGと結合して完全活性型の酵素となります。PLA₂の作用によって遊離したアラキドン酸もまた細胞質型PKCを活性化します。

PKCが持続的に活性化または抑制されることは、細胞増殖、分化そして腫瘍形成に重要な役割を果たします。PKC活性の変化はさまざまな種類の悪性腫瘍

と関係しています。乳房腫瘍、下垂体腺腫、甲状腺がん組織、白血病細胞、肺癌細胞において、高レベルのPKC活性や複数のPKCアイソザイムの異なる活性が報告されています。特に、PKCεおよびPKCβ₂の過剰発現は、制御不能の細胞増殖や形質転換と関連しています。

Protein Kinase C signaling

一方、PKCα、PKCβ₁およびPKCδの過剰発現は、ある種の癌細胞株やがん化していない腸上皮細胞などで見られ、細胞増殖の遅延や腫瘍形成の抑制に寄与することが報告されています。また、PKCαの発現低下は直腸腺癌の多く、そして腸癌の初期の段階で報告されています。従って、PKCアイソザイムにおける突然変異はどれも、細胞の機能障害を起こし、腫瘍発生が起こりやすくなる可能性を秘めています。

タモキシフェンやサフィンゴールなどのPKC阻害剤は現在、乳癌の治療に使用されています。近年、PKC触媒ドメインのシステイン残基に作用し、活性を抑制する抗酸化剤の治療効果が期待されています。また、PKCがアポトーシスの制御に関与するという事は、PKCを特異的に標的とする薬剤開発に新たな切り口を与えることになるでしょう。PKC阻害剤は種々の細胞株でアポトーシスの誘導の目的でよく使用されています。PKC阻害剤のみを細胞に処理する研究から、活性型PKCが細胞をアポトーシスから防御しているということが明らかになりました。しかし、PKCがアポトーシスの正の調節因子なのか、それとも負の調節因子なのかは未だに議論の余地があり、さらなる研究が必要です。

参考文献

Gould, C.M., and Newton, A.C. 2008. *Curr. Drug Targets* 9, 614.
 Vignot, S., et al. 2008. *Bull. Cancer* 95, 683.
 Breitkreutz, D., et al. 2007. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 133, 793.
 Yamaguchi, T., et al. 2006. *Allergol. Int.* 55, 245.
 Pickett, C.A., et al. 2002. *Mol. Endocrinol.* 16, 2840.
 Black, J.D. 2000. *Front. Biosci.* 5, 406.
 Musashi, M., et al. 2000. *Int. J. Hematol.* 72, 12.
 Gopalakrishna, R., and Jaken, S. 2000. *Free Radic. Biol. Med.* 28, 1349.
 Cooper, D.R., et al. 1999. *Arch. Biochem. Biophys.* 372, 69.
 Yamamoto, M., et al. 1998. *Exp. Cell Res.* 240, 349.
 Rasmussen, H., et al. 1995. *Endocr. Rev.* 16, 649.
 Taylor, S.S., et al. 1995. *FASEB J.* 9, 1255.
 Nishizuka, Y. 1995. *FASEB J.* 9, 484.
 Newton, A.C. 1995. *J. Biol. Chem.* 270, 28495.
 Hanks, S., and Hunter, T. 1995. *FASEB J.* 9, 576.
 Blobe, G.C., et al. 1994. *Cancer Metastasis Rev.* 13, 411.
 Basu, A. 1993. *Pharmacol. Ther.* 59, 257.
 Gopalakrishna, R., et al. 1992. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 189, 950.
 Walaas, S.I., and Greengard, P. 1991. *Pharmacol. Rev.* 43, 299.

本稿をご提供いただきましたメルク株式会社の皆様にご心より感謝申し上げます。

CaMK IIおよびリン酸化CaMK II免疫組織化学キット

組織切片サンプルのリン酸化CaMK II α抗体染色に！

背景

CaMK IIはcalcium/calmodulinactivated protein kinase familyの重要なメンバーで、神経シナプスの刺激やT細胞シグナリングにおいて機能します。CaMK IIは様々な異なる組織で発現していますが、前脳の神経で特異的にみられ、そのmRNAは樹状突起や神経の細胞体内でみられる。神経中に存在するCaMK IIは、52と60kDaの2つのサブユニットから構成されます。CaMK IIは触媒と制御領域の他にATP結合ドメインや共通したリン酸化部位を持ちます。Ca²⁺/calmodulinの制御領域への結合は、自己抑制効果を放出し、キナーゼを活性化します。このキナーゼ活性化は、286番目のスレオニンの自己リン酸化を引き起こします。CaMK IIのスレオニンリン酸化状態は、PP1/PKAを通じて制御可能です。一方で、PP1 (protein phosphatase 1)は、リン酸化CaMK II (286番目のスレオニン)を脱リン酸化し、PKA (protein kinase A)はこの脱リン酸化を妨げます。自己リン酸化は、CaMK IIをシナプス後肥厚部のNMDAレセプターに対する親和性を促進することも可能です。

特長

本アッセイは、凍結およびパラフィン組織切片の抗体染色にかんする制限を取り除くために、新しい技術を駆使しています。その技術は、抗原露出のために特別な組成のバッファーや最適化した抗体を含みます。また、Antibody Amplifier™ と呼ばれる独特なプレートを含んでいます。抗体液中でスライドをインキュベートする間に、固定と染色や再現性のある結果も保障されます。本キットで使用される抗体液は、IHC Gold™ キットで使用するために最適化しており、独立型の試薬としては使用できませんのでご注意ください。

使用目的

本アッセイは、凍結およびパラフィン包埋組織切片におけるリン酸化および非リン酸化型CaMK II αの両方を検出できます。リン酸化CaMK II抗体(モノクローナル抗体22B1)は、Thr-286/287でリン酸化されたCaMK IIのαおよびβサブユニットに対して特異的です。

構成内容

	品番末尾			
	-X	-R	-B	-RB
CaMK II抗体*	○	○	○	○
IHC洗浄バッファー (20x)	○	○	○	○
エピトープアンマスキング液 (10x)	○	○	○	○
抗体希釈バッファー	○	○	○	○
Antibody Amplifier™	-	○	-	○
Antibody Amplifier Eclipse™ (IF用)	-	-	○	○

*品番：SKT-220はCaMK II抗体、品番：SKT-221はリン酸化CaMK II抗体、品番：SKT-223はCaMK IIとリン酸化CaMK II抗体のセットが含まれています。

(A) 大腸がん組織におけるCaMK II抗体を用いた染色。抗体は、1：10,000希釈で使用した。
(B) 大腸がん組織におけるリン酸化CaMK II抗体を用いた染色。抗体は、1：5,000希釈で使用した。

【メーカー：SMQ】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
IHC-CaMK II	SKT-220B	160スライド	¥ 111,000		冷蔵
IHC-CaMK II	SKT-220R	160スライド	¥ 108,000		冷蔵
IHC-CaMK II	SKT-220RB	160スライド	¥ 118,000		冷蔵
IHC-CaMK II	SKT-220X	160スライド	¥ 104,000		冷蔵
IHC-CaMK II and CaMK II phospho	SKT-223B	160スライド	¥ 121,000		冷蔵
IHC-CaMK II and CaMK II phospho	SKT-223R	160スライド	¥ 118,000		冷蔵
IHC-CaMK II and CaMK II phospho	SKT-223RB	160スライド	¥ 128,000		冷蔵
IHC-CaMK II and CaMK II phospho	SKT-223X	160スライド	¥ 114,000		冷蔵
IHC-CaMK II phospho	SKT-221B	160スライド	¥ 111,000		冷蔵
IHC-CaMK II phospho	SKT-221R	160スライド	¥ 108,000		冷蔵
IHC-CaMK II phospho	SKT-221RB	160スライド	¥ 118,000		冷蔵
IHC-CaMK II phospho	SKT-221X	160スライド	¥ 104,000		冷蔵

MBPK (ミエリン塩基性タンパク質キナーゼ)

使用目的

ミエリン塩基性タンパク質キナーゼ (MBPK) の活性に対するテスト物質の影響を評価したり、酵素の新しい基質の同定等、ミエリン塩基性タンパク質キナーゼ (MBPK) や関連するセリンプロテインキナーゼの活性測定を行うキットです。

構成内容

- directional insert
- Magnesium/ATP Cocktail
- purified MBPK-1 sample
- Assay Buffer
- MBP

【メーカー：GBZ】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ミエリン塩基性タンパク質キナーゼ (MBPK) アッセイキット MBPK assay kit	GLO113-01	1キット (50アッセイ)	¥ 111,000		凍

タンパク質

品名	由来 (詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
CaM	Human (Native)	CBC	208698	500µg	¥ 45,900		凍
CaM	Bovine (Native)	CBC	208694	1mg	¥ 32,600		凍
CaM Kinase 2α	Rat (Recombinant)	CBC	208707	500ng	¥ 52,200		凍
PKC	Rat (Native)	CBC	539494	50µl	¥ 58,800		凍
PKC activator PMA/TPA		BFG	PKE-PMA-005	5mg	¥ 48,000		凍
PKC α	Human (Recombinant)	BFG	PK-PKCA-A010	10µg	¥ 80,000		凍
PKC α	Xenopus (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P61-10G*	5µg	¥ 28,000		凍
PKC α	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2058B	5µg	¥ 60,000		凍
PKC α	Human (Recombinant)	CBC	539651*	5µg	¥ 27,800		凍

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PKC α , active	Xenopus (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K035*	5 μ g	¥ 36,500		凍
PKC β 1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P62-10G*	5 μ g	¥ 28,000		凍
PKC β 1, active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K083G*	5 μ g	¥ 60,500		凍
PKC β 2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P63-10G*	5 μ g	¥ 28,000		凍
PKC β 2, active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K036*	5 μ g	¥ 36,500		凍
PKC γ	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P66-10G*	5 μ g	¥ 28,000		凍
PKC γ	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2058G	5 μ g	¥ 60,000		凍
PKC γ , active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K040*	5 μ g	¥ 36,500		凍
PKC δ	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P64-10G*	5 μ g	¥ 28,000		凍
PKC δ , active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K037*	5 μ g	¥ 36,500		凍
PKC ϵ	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P65-10G*	5 μ g	¥ 28,000		凍
PKC ϵ , active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K038*	20 μ g	¥ 109,500		凍
PKC ζ	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P75-10G*	5 μ g	¥ 28,000		凍
PKC ζ , active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K044*	5 μ g	¥ 36,500		凍
PKC η	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P67-10G*	5 μ g	¥ 28,000		凍
PKC η	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2058H	5 μ g	¥ 60,000		凍
PKC η , active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K039*	20 μ g	¥ 109,500		凍
PKC ι	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P68-10G*	5 μ g	¥ 28,000		凍
PKC ι , active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K041*	5 μ g	¥ 36,500		凍
PKC μ	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P72-10G*	5 μ g	¥ 28,000		凍
PKC μ , active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K042*	5 μ g	¥ 36,500		凍
PKC ν	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	SCP	P73-10G*	5 μ g	¥ 28,000		凍
PKC ν , active	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9 insect cells, GST-tag)	ECL	E-K043*	5 μ g	¥ 36,500		凍

品番に*印の付いた商品は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(通称カルタヘナ法)の使用規制対象品です。ご使用に際しては、規制に則し適切にお取り扱いください。最新の情報につきましては、*印の有無に関わらずご注文の前にコスモ・バイオ(株)までお問い合わせください。

インヒビター

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Calmodulin Binding Domain Peptide-CaM Kinase II inhibitor	—	AQI	I-0315	500 μ g	¥ 42,000		
Calmodulin Kinase Inhibitor Peptide	brain	AIC	CAMK-II-IP	500 μ g	¥ 37,000		凍
CaM Kinase Inhibitor		SCB	SC-3039	0.5mg	¥ 17,000		凍
CaM Kinase (290-309) Inhibitor		SCB	SC-3037	0.5mg	¥ 17,000		凍
CaM kinase II (281-301), inhibitor	Synthetic	CBC	208710	500 μ g	¥ 45,900		凍
CaM kinase II (281-302), inhibitor		BMO	P202-0500	0.5mg	¥ 33,000		凍
CaM kinase II (281-309), inhibitor	Synthetic	CBC	208711	500 μ g	¥ 30,200		凍
CaM kinase II (281-309), inhibitor		BMO	P201-0500	0.5mg	¥ 48,000		凍
CaM Kinase II Inhibitor		CBC	208922	5mg	¥ 41,400		冷
CaMKP Inhibitor		CBC	208775	100mg	¥ 20,700		冷
PKC Inhibitor 20-28, Cell-Permeable, Myristoylated	Synthetic	CBC	476480	500 μ g	¥ 25,400		凍
PKC Inhibitor Peptide	Synthetic	SCB	SC-3007	0.5mg	¥ 17,000		凍
PKC Inhibitor Peptide 19-31	Synthetic	CBC	05-23-4904	1mg	¥ 25,400		凍
PKC Inhibitor Peptide 19-36	Synthetic	CBC	539560	500 μ g	¥ 34,800		凍
PKC Inhibitor Protein-1	Recombinant	CL	CLPKA238-2	50 μ g	¥ 51,000		
PKC Inhibitor, EGF-R Fragment 651-658, Myristoylated	Synthetic	CBC	476475	500 μ g	¥ 26,400		凍
PKC Peptide Inhibitor	Synthetic	SCB	SC-3092	0.5mg	¥ 17,000		凍
PKC Peptide Inhibitor, Cell Permeable	Synthetic	SCB	SC-3093	0.5mg	¥ 17,000		冷
PKC β C2-4, inhibitor	Synthetic	SCB	SC-3094	0.5mg	¥ 17,000		凍
PKC β C2-4, inhibitor		BMO	P220-0001	1mg	¥ 18,000		凍
PKC ϵ Inhibitor Peptide	Synthetic	SCB	SC-3095	0.5mg	¥ 17,000		
PKC ϵ Translocation Inhibitor Peptide	Synthetic	SCB	SC-3099	0.5mg	¥ 17,000		凍
PKC η Pseudo-substrate Inhibitor	Synthetic	SCB	SC-3096	0.5mg	¥ 17,000		凍
PKC θ Pseudo-substrate Inhibitor	Synthetic	SCB	SC-3097	0.5mg	¥ 17,000		凍
PKC β Inhibitor	—	CBC	539654	500 μ g	¥ 33,900		冷
PKC β 2/EGFR Inhibitor		CBC	539652	2mg	¥ 31,400		冷
PKC ϵ Translocation Inhibitor Peptide	Synthetic	CBC	539522	5mg	¥ 39,100		冷

Proteome Profiler™ Array

複数のキナーゼのリン酸化を同時に検出できる抗体アレイ！！

同一サンプル中から、42種類のRTKのリン酸化を同時に検出できる“Phospho-RTK Array Kit”及び、19種類のキナーゼを同時に検出できる“Phospho-MAPK Array Kit”をご用意しています。

測定原理

キャプチャー抗体及びコントロール抗体が、ニトロセルロース膜に二重にスポットされています。希釈した細胞溶解液と本アレイをインキュベーションし、リン酸化・非リン酸化タンパク質の細胞外ドメインが結合した後、結合しなかった物質を洗浄します。その後、HRP標識のリン酸化抗体 (pan) を用いて、活性型リン酸化タンパク質を化学発光法により検出します。

技術情報 は、101ページ参照

Simultaneously detect the relative phosphorylation of these RTKs in a single sample.

Axl	ErbB3	PDGF R α
Dtk	ErbB4	PDGF R β
EGF R	FGF R1	c-Ret
EphA1	FGF R2 α	ROR1
EphA2	FGF R3	ROR2
EphA3	FGF R4	SCF R
EphA4	Flt-3	Tie-1
EphA6	IGF-1 R	TrkA
EphB1	M-CSF R	TrkC
EphB4	Mer	VEGF R1
EphB6	MSP R	VEGF R2
ErbB2	MuSK	VEGF R3

ヒトレセプターチロシンキナーゼ (RTK) リン酸化抗体アレイ

背景

レセプターチロシンキナーゼファミリー (RTK) は、細胞外からの増殖シグナルや分化シグナルを受容することにより活性化され、細胞内シグナル伝達分子へ情報を伝えます。基本的にはリガンド依存的に活性化され、代表的な例としては、EGF-R (Epidermal Growth Factor Receptor) があります。

タンパク質アレイ技術の発展は、免疫沈降やウェスタンブロット解析なしに、多数のタンパク質のスクリーニングを可能にしました。

使用目的

このアレイキットは、各溶解液サンプル中に存在する、42種類の異なるRTKの、チロシンのリン酸化を同時に検出するためにデザインされた、スクリーニングツールです。フレキシブルなプロトコルで、迅速かつ高感度な結果を得るために使用する化学発光検出には、特別な装置や免疫沈降・ウェスタンブロットの必要がなく、非常に経済的なアッセイです。本キットには、42種類の異なるRTKに対する抗体がスポットされたニトロセルロース膜4枚、バッファー及び検出用のHRP標識抗体が含まれています。

特長

- 高い特異性
42種類のキャプチャー抗体の交差反応性は低いです。
- 迅速
測定時間は5時間です。
- 高効率
42種の異なるRTKを、小さなサンプルサイズで同時にテストできます。
- 高感度
IP-ウェスタンブロットよりも20倍高感度です。
- 簡便
化学発光による検出法です。
- フレキシブル
プロトコルは特定のニーズにも対応可能です。

構成内容

- リン酸化-RTKアレイ …………… 4 枚
- アレイバッファー1 …………… 1バイアル (21 ml)
- アレイバッファー2 (5 $\times$) …………… 1バイアル (21 ml)
- 洗浄バッファー (10 $\times$) …………… 2バイアル (各21 ml)
- HRP標識リン酸化チロシン検出抗体 …… 1バイアル (0.05 ml)
- 4ウェルマルチディッシュ …………… 1ディッシュ
- 透明オーバーレイテンプレート …… 1テンプレート
- プロトコル …………… 1 部

図1. 半定量的かつ、免疫沈降 (IP)-ウェスタンブロット解析よりも高感度なヒトリン酸化-RTKアレイ

図3. レセプター競合によって示すヒトリン酸化-RTKアレイのErbB2、ErbB3及びErbB4への特異性

図2. 未処理及びリガンド処理された細胞溶解液中の、様々なチロシンリン酸化レセプターを検出するヒトリン酸化-RTKアレイ

[メーカー：RSD]

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ヒトリン酸化-レセプターチロシンキナーゼ (RTK) アレイキット Human Phospho-RTK Array Kit	ARY001	1キット	¥ 83,000		☼

ヒト MAPK リン酸化抗体アレイ

背景

MAPK、ERK1/2、JNK1-3および各p38アイソフォーム(α/β/δ/γ)のシグナル分子の細胞機能および疾病における役割を解明する際に、これらの3つの主要なファミリーのリン酸化状態を解析することが、必要不可欠です。その他、Akt、GSK-3およびp70 S6キナーゼのような細胞内キナーゼも、発生および細胞増殖を介するシグナル伝達における重要な調節因子と考えられています。

使用目的

このアレイキットは、多数の免疫沈降およびウェスタンブロットを行わずに19種類のキナーゼのリン酸化を同時に検出するためにデザインされた経済的なツールです。各キナーゼを、ニトロセルロース膜上にスポットされた23種類の異なる抗体で捕捉します。続いてリン酸化タンパク質レベルを、リン酸化-特異的抗体および化学発光検出により評価できます。

Simultaneously detect the relative phosphorylation of these kinases in a single sample.

ERK1	p38 α	Akt1
ERK2	p38 β	Akt2
JNK1	p38 γ	Akt3
JNK2	p38 δ	Akt pan
JNK3	RSK1	GSK-3α/β
JNK pan	RSK2	GSK-3β
MSK2	p70 S6K	HSP27

実験結果の例

未処理及びPMA処理のHeLa細胞ライゼートにおいて、様々なキナーゼのリン酸化が検出可能。PMA処理は、200nMで20分間行った。X線フィルムにスキャンしたアレイシグナルは、イメージ解析ソフトを用いて解析した。

[メーカー：RSD]

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ヒトリン酸化-MAPキナーゼ (MAPK) アレイキット Human Phospho-MAPK Array Kit	ARY002	1キット	¥ 103,000		☼

ヒト キナーゼリン酸化抗体アレイ

46種類のキナーゼのリン酸化を同時に検出できます

背景

細胞溶解液から迅速、高感度、かつ経済的にキナーゼ46種類のリン酸化の相対的レベルを同時に検出することができます。多数の免疫沈降やウェスタンブロットを行う必要がありません。

使用目的

このアレイキットは、各溶解液サンプル中に存在する、42種類の異なるRTKの、チロシンのリン酸化を同時に検出するためにデザインされた、スクリーニングツールです。フレキシブルなプロトコールで、迅速かつ高感度な結果を得るために使用する化学蛍光検出には、特別な装置や免疫沈降・ウェスタンブロットの必要がなく、非常に経済的なアッセイです。本キットには、42種類の異なるRTKに対する抗体がスポットされたニトロセルロース膜4枚、バッファー及び検出用のHRP標識抗体が含まれています。

Akt (S473)	Akt (T308)	AMPK α 1 (T174)	AMPK β 2 (T172)	β -Catenin (—)
Chk-2 (T68)	CREB (S133)	ERK1/2 (T202/Y204) / (T185/Y187)	FAK (Y397)	Fgr (Y412)
Fyn (Y420)	GSK-3-Catenin (S21/S9)	Hck (Y411)	HSP27 (S78/S82)	JNK pan (T183/Y185) / (T221/Y223)
c-JUN (S63)	Lck (Y394)	Lyn (Y397)	MEK1/2 (S218/S222) / (S222/S226)	MSK1/2 (S376/S360)
eNOS (S1177)	p27 (T157)	p27 (T198)	p38 (T180/Y182)	p53 (S15)
p53 (S46)	p53 (S392)	p70 S6 Kinase (T229)	p70 S6 Kinase (T389)	p70 S6 Kinase (T421/S424)
Paxillin (Y118)	PLC γ -1 (Y783)	Pyk2 (Y402)	RSK1/2 (S221)	RSK1/2/3 (S380)
Src (Y419)	STAT1 (Y701)	STAT2 (Y689)	STAT3 (Y705)	STAT4 (Y693)
STAT5a (Y699)	STAT5a/b (Y699)	STAT5b (Y699)	STAT6 (Y641)	TOR (S2448)
Yes (Y426)				

アレイにスポットされている46種類のリン酸化キナーゼ抗体

過酸化水素処理したJurkat細胞 (ヒト白血病T細胞株) における細胞内キナーゼのリン酸化

A) ヒトJurkat細胞は、未処理のものと同酸化水素処理したものがあります。多様な細胞内キナーゼのリン酸化レベルを細胞溶解液から本キットを用いて同時に評価しました。(PC: ポジティブコントロール) B) 選択分析に対するヒストグラムプロファイルは、イメージ解析ソフトウェアを使用し、本アレイからスポットのピクセル密度の平均を定量することによって得られました。

【メーカー：RSD】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Proteome Profiler™ Phospho-Kinase Array Kit	ARY003	1キット	¥ 145,000		☞

ヒト 免疫受容体リン酸化抗体アレイ

免疫受容体59種類のチロシンリン酸化の相対レベルを

同時に検出!

背景

免疫受容体、及びITAM(免疫受容体活性化型チロシンモチーフ)やITIM(免疫受容体抑制性チロシンモチーフ)上の調節シグナル分子のチロシンリン酸化は、免疫システムにおける細胞活性化の制御に重要な役割を果たしています。

使用目的

セルライゼートから迅速、高感度、かつ経済的に、免疫受容体59種類のリン酸化の相対レベルを、同時に検出することができます。多数の免疫沈降やウェスタンブロットを行う必要はありません。

構成内容

- リン酸化免疫レセプターアレイ
- アレイバッファ-1
- アレイバッファ-2(5×)
- 溶解バッファ-15
- 洗浄バッファ(25×)
- HRP標識-リン酸化チロシン抗体
- 4ウェルマルチディッシュ
- 透明オーバーレイテンプレート

アレイにスポットされている59種類の免疫受容体抗体

PY-Control*	FcRH2/IRTA4	SHP-1
Bt-Control**	FcRH4/IRTA1	SHP-2
2B4/SLAMF4	FcRH5/IRTA2	Siglec-2/CD22
BLAME/SLAMF8	ILT2/CD85j	Siglec-3/CD33
BTLA	ILT3/CD85k	Siglec-5
CD3ε	ILT4/CD85d	Siglec-7
CD5	ILT5/CD85a	Siglec-9
CD6	ILT6/CD85e	Siglec-10
CD28	Integrin β3/CD61	SIRP-β1
CD84/SLAMF5	KIR2DL4	SLAM/CD150
PY-Control*	LAIR-1	TREM-1
Bt-Control**	LAIR-2	TREM-2
CD229/SLAMF3	LMIR1/CD300A	TREML1/TLT-
CEACAM-1	LMIR2/CD300C	Goat IgG
CLEC-1	LMIR3/CD300LF	Mouse IgG1
CLEC-2	LMIR6/CD300LE	Mouse IgG2A
CRACC/SLAMF7	MDL-1/CLEC5A	Mouse IgG2B
CTLA-4/CD152	NKp30/NCR3	Mouse IgG3
DCIR/CLEC4A	NKp44/NCR2	PY-Control
Dectin-1/CLEC7A	NKp46/NCR1	Bt-Control
DNAM-1	NKp80/KLRF1	Rat IgG1
FcεRII/CD23	NTB-A/SLAMF6	Rat IgG2A
FcγRIIA	PD-1	Rat IgG2B
FcγRIIIA/B	PECAM/CD31	PBS
FcRH1/IRTA5	SHIP-1	

*リン酸化チロシン ポジティブコントロール

**ビオチンコントロール

A Anti-FcγRIIA Activation of THP-1 Cells

B Anti-CD3ε Activation of Jurkat Cells

細胞表面免疫受容体の抗体クロスリンクにより活性化された細胞から調製した、ライゼート中に存在する多数のチロシンリン酸化免疫受容体の検出

A: THP-1細胞を、ヤギFcγRIIA抗体(品番AF1875)、もしくはヤギIgG抗体(品番AB-108-C)とインキュベーションした後、ロバ抗ヤギIgG抗体(品番AF109)と5分間インキュベーション。

B: ジャーカット細胞を、マウスモノクローナルCD3ε抗体、もしくはマウスIgG1アイソタイプコントロール(品番MAB002)とインキュベーションした後、ヤギ抗マウス抗体(品番AF007)と5分間インキュベーション。アレイと100μgのライゼートをインキュベーションし、抗免疫受容体活性化サンプルのX線フィルムイメージシグナルを、イメージ解析ソフトを用いて解析。各スポットの受容体は、次に示すとおり。

(1: 2B4/SLAMF4, 2: CD3ε, 3: CD5, 4: CEACAM-1, 5: FcγRIIA, 6: FcRH2/IRTA4, 7: ILT3/CD85k, 8: ILT6/CD85e, 9: KIR2DL4, 10: PD-1, 11: Siglec-7, 12: Siglec-10, 13: TREM-2, 14: TREML1/TLT-1)

【メーカー: RSD】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Proteome Profiler™ Human Phospho-Immunoreceptor Array Kit	ARY004	1キット	¥ 103,000		☼

パスウェイに特化した抗体マイクロアレイ

親和性の高い三次元ポリマーガラスの抗体マイクロアレイ

背景

抗体マイクロアレイは、タンパク質発現の正確なプロファイリングをハイスルーブットに解析するのに適しています。フルムーンバイオシステムズ社のパスウェイに特化した抗体マイクロアレイとリン酸化抗体マイクロアレイは、あらゆる研究分野で注目を集めるタンパク質の研究用として開発されました。

独自の3次元ポリマーで表面をコーティングした高品質のガラス上に凍結乾燥した抗体がコートされているので、効果的かつ特異的に結合できます。このアレイは、蛍光、比色、化学発光等、あらゆる検出方法に適しています。

特長

- タンパク質発現プロファイリングのハイスルーブット用です。
- 厳選された抗体がアレイされています。
- 3次元ポリマーベースのスライドを用いています。
- バックグラウンドが低く、高感度かつ高親和性です。
- スポットの形状が均一です。
- 蛍光、比色、化学発光など、あらゆる検出法に適しています。
- 便利で正確なGal Fileで解析できます。
- タンパク質の抽出、ラベリング、コンジュゲートに必要な試薬が全て含まれています。
- 簡単なプロトコルです。

使用目的

- タンパク質発現解析
- スクリーニング

構成内容

- Antibody Microarray (2枚)

Antibody Microarray 仕様

サイズ	76 x 25 x 1mm
バーコード	含
バーコードのサイズ	23 x 9mm
スポットの大きさ	280 - 320µm
スポット間の距離	600 - 700µm

推奨スキャナー

- ・ GenePix (Molecular Devices)
- ・ Agilent
- ・ Scan Array (Perkin Elmer)
- ・ Revolution (Vidar System)
- ・ AlphaScan (Alpha Innotech)

プロトコル(一例)

タンパク質の抽出

⇒タンパク質をビオチン標識

⇒ビオチン標識タンパク質を抗体アレイとハイブリダイズ

⇒検出 (Cy3の蛍光シグナルをスキャン)

アレイされている抗体のカテゴリ(品番: ASB600J)

Adhesion Molecules	G Proteins & Receptors	Proteases & Inhibitors
Angiogenesis	Hematopoiesis	Proteolysis
Apoptosis	Hormones	Receptor Tyrosine Kinases
Cancer Markers	Immunoglobulins	Stem Cell
Cell Cycles	Inflammation	Stress Response
Cell Junctions	Insulin homeostasis	T-cell Markers
Cytoskeletal Proteins	Ion Channels	TNFR family
DNA Replication & Repair	Negative Control	Transcriptional Regulators
EGFR family	Neuroscience	Transferrin Receptor
Epitope Tags	Nuclear Receptors	Tumor Suppressors

【メーカー: FMB】

649種類の抗体がスポットされた抗体アレイ

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Explorer Antibody Array, Japanese Version	ASB600J	2スライド	¥ 160,000		室温

ご注意: 本商品は特許抵触する抗体を除いた日本向けのアレイですので、フルムーンバイオシステム社 Antibody Array (品番ASB600)とは一部異なります。

パスウェイに特化した抗体アレイ

【メーカー: FMB】

品名	適用種	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Apoptosis Antibody Array, Japanese version	Human	APP069J	2スライド	¥ 88,000		室温
Cancer Marker Antibody Array	Human	ACM083	2スライド	¥ 93,000		室温
Cell Cycle Antibody Array	Human	ACC058	2スライド	¥ 81,000		室温
Hematopoiesis Antibody Array	Human	AHT049	2スライド	¥ 75,000		室温
Hormone Antibody Array	Human	AHM030	2スライド	¥ 62,000		室温
Signal Transduction Antibody Array	Human	AST160	2スライド	¥ 125,000		室温
Stem Cell Antibody Array	Human	ASC048	2スライド	¥ 79,000		室温

リン酸化抗体アレイ

【メーカー: FMB】

品名	適用種*	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
AKT Pathway Phospho Antibody Array	Human	PAA137	2スライド	¥ 114,000		室温
Cancer/Apoptosis Phospho Antibody Array	Human	PAC155	2スライド	¥ 119,000		室温
Cell Cycle Phospho Antibody Array	Human	PCC076	2スライド	¥ 88,000		室温
Chromatin/Transcription Phospho Antibody Array	Human	PCT173	2スライド	¥ 126,000		室温
Cytoskeletal Pathway Phospho Antibody Array	Human	PCP095	2スライド	¥ 98,000		室温
Insulin/Glucose Phospho Antibody Array	Human	PIG085	2スライド	¥ 93,000		室温
Jak/Stat Pathway Phospho Antibody Array	Human	PJS042	2スライド	¥ 69,000		室温
MAPK Pathway Phospho Antibody Array	Human	PMK185	2スライド	¥ 132,000		室温
Neuroscience Phospho Antibody Array	Human	PNS032	2スライド	¥ 63,000		室温
NF-κ B Pathway Phospho Antibody Array	Human	PNK063	2スライド	¥ 83,000		室温
Nuclear/Membrane Receptor Phospho Antibody Array	Human	PNR052	2スライド	¥ 75,000		室温
Tyrosine Kinase Adaptor Phospho Antibody Array	Human	PTK098	2スライド	¥ 98,000		室温

*一部マウスに交差する抗体を含むアレイもございます。ご照会ください。

抗体アレイ用キット

使用目的

抗体マイクロアレイ2枚分に必要試薬のセットです。

構成内容

- ビオチン標識
- ブロッキング試薬

- カップリング試薬
- DMF (N,N-Dimethylformamide)
- ドライミルク
- 停止試薬
- 溶解ピーズ
- カップリングチャンバー
- 検出バッファー
- 抽出バッファー
- 標識バッファー
- 洗浄バッファー 10x
- スピニングカラム

※その他に、Cy3-ストレプトアビジン、BCAタンパク質アッセイキットが必要です。

【メーカー: FMB】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Antibody Array Assay Kit	KAS02	1キット	¥ 61,000		室温

シグナル伝達関連抗体アレイ

1スライドで複数のサンプル解析が可能な抗体アレイ

背景

ヒト、マウス、ラットの細胞/組織抽出物内のタンパク質発現および、リン酸化の状態を研究するために設計されています。同時に複数のタンパク質を解析できるので、さまざまなアプリケーションにご使用いただけます。

特長

- ウエスタンブロットに比べ安価で迅速。
- キナーゼのリン酸化を高感度に検出。
- 複数のシグナルタンパク質を同時にスクリーニングが可能です。
- 蛍光スキャナーと互換性があります。

使用目的

- screenC**: ニトロセルロース表面。比色、化学発光検出用。16のアレイをスポット。75.6×25.0×1.0 (mm)
- screenF**: コート済みガラス表面。蛍光検出用。14のアレイをスポット。75.6×25.0×1.0 (mm)

レイアウト例

レイアウト

100% Cy3	50% Cy3 50% Cy5	100% Cy5	100% Cy3	Phosphoserin	Phospho-Stat3 (Tyr705)	Phospho-c-Raf (Ser338)
BSA Control	Phospho-cdk-Substrat	p15	50% Cy3 50% Cy5	Phosphotyrosin	Phospho-Stat3 (Ser727)	Stat3
cdk1	Cyclin A	p16	100% Cy5	SAPK/JNK	p38	Erk1/2
cdk2	Cyclin B1	p18	Actin	Phospho-SAPK/JNK (Thr183/Tyr185)	Phospho-p38 (Thr180/Tyr182)	Phospho-Erk1/2 (Thr202/Tyr204)
P-cdk2	Cyclin D1	p19				
cdk4	Cyclin D2	p21				
cdk6	Cyclin D3	p27				
Actin	Cyclin E2	Wee1				

CellCycle.screenのレイアウト (Triplicateスポット) MAP.screenのレイアウト (Quadruplicateスポット)

100% Cy3	Phospho-c-Raf (Ser338)	Phospho-GSK-3β (Ser9)	Phospho-PTEN (Ser380)
70% Cy3/30% Cy5	p38	Phospho-Chk1 (Ser345)	Phospho-PDK1 (Ser241)
50% Cy3/50% Cy5	Phospho-p38 (Thr180/Tyr182)	Phospho-cdk2 (Thr160)	Akt
30% Cy3/70% Cy5	Erk1/2	Phospho-cdk-Substrat	Phospho-Akt (Ser473)
100% Cy5	Phospho-Erk1/2 (Thr202/Tyr204)	Phospho-Rb (Ser795)	Phospho-Akt (Thr308)
Phosphoserin	SAPK/JNK	Phospho-Rb (Ser807/811)	Phospho-p53 (Ser15)
Phosphotyrosin	Phospho-SAPK/JNK (Thr183/Tyr185)	Phospho-Stat3 (Tyr705)	Phospho-Chk2 (Thr68)
Actin	Stat3	Phospho-Stat3 (Ser727)	Phospho-cdc2 (Tyr15)

Signal.screen 27のレイアウト (Duplicateスポット)

Actin	Cyclin A	p15	cdk1	Phospho-PTEN (Ser380)	Stat3	Phospho-c-Raf (Ser338)
100% Cy3	Cyclin B1	p16	Phospho-cdc2 (Tyr15)	Phospho-PDK1 (Ser241)	Phospho-Stat3 (Tyr705)	p38
50% Cy3 50% Cy5	Cyclin D1	p18	cdk2	Akt	Phospho-Stat3 (Ser727)	Phospho-p38 (Thr180/Tyr182)
100% Cy5	Cy7cln D2	p19	Phospho-cdk2 (Thr160)	Phospho-Akt (Ser473)	Phospho-GSK-3β (Ser9)	Erk1/2
Phospho-serin	Cyclin D3	p21	cdk4	Phospho-Akt (Thr3028)	Phospho-Chk1 (Ser345)	Phospho-Erk1/2 (Thr202/Tyr204)
Phospho-tyrosin	Cyclin E2	p27	cdk6	Phospho-p53 (Ser15)	Phospho-Rb (Ser795)	SAPK/JNK
Actin	BSA-Control	Wee1	Phospho-cdk-Substrat	Phospho-Chk2 (Thr68)	Phospho-Rb (Ser807/811)	Phospho-SAPK/JNK (Thr183/Tyr185)

Signal.screen 44のレイアウト (Singleスポット)

【メーカー：BSG】

品名	カテゴリ	アレイされている抗体の数	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
CellCycle.screen C	細胞周期	20	CSC	1スライド	¥ 69,000	☹	☹
CellCycle.screen F	細胞周期	20	CSF	1スライド	¥ 69,000	☹	☹
MAP.screen C	MAPキナーゼカスケード	13	MSC	1スライド	¥ 101,000	☹	☹
MAP.screen F	MAPキナーゼカスケード	13	MSF	1スライド	¥ 101,000	☹	☹
Signal.screen 27 C	MAPキナーゼカスケード、Akt、チェックポイントキナーゼカスケード	27	SS27C	1スライド	¥ 274,000	☹	☹
Signal.screen 27 F	MAPキナーゼカスケード、Akt、チェックポイントキナーゼカスケード	27	SS27F	1スライド	¥ 274,000	☹	☹
Signal.screen 44 C	MAPキナーゼカスケード、Akt、チェックポイントキナーゼカスケード、細胞周期	44	SS44C	1スライド	¥ 309,000	☹	☹
Signal.screen 44 F	MAPキナーゼカスケード、Akt、チェックポイントキナーゼカスケード、細胞周期	44	SS44F	1スライド	¥ 309,000	☹	☹

関連商品

この抗体アレイをご使用いただく上で必要な
スターターキットとReady-to-useキットです

構成内容

【スターターキット】

- スライドホルダー
- バッファー類、ラベル用試薬など抗体アレイに必要な試薬
- Quanti .screenソフトウェア (1ヶ月無償)

【Ready-to-useキット】

- バッファー類、ラベル用試薬など抗体アレイに必要な試薬

※.screen C用のスターターキット、Ready-to-useキットには、HRP検出用ダイは含まれません。

【メーカー：BSG】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Ready-to-use Kit for .screen C Antibody Microarrays	RKC	1キット	¥ 71,000		
Ready-to-use Kit for .screen F Antibody Microarrays	RKF	1キット	¥ 84,000		
Starter Kit for .screen C Antibody Microarrays	SKC	1キット	¥ 154,000		
Starter Kit for .screen F Antibody Microarrays	SKF	1キット	¥ 161,000		

K-LISA™ シリーズ

キナーゼ活性を半定量的に、高感度に測定可能！！

背景

K-LISAはキナーゼ活性ELISAを意味します。K-LISAは、キナーゼ活性をリン酸化特異的抗体によるELISA法で半定量的に測定するツールです。精製されたキナーゼ、半精製されたキナーゼまたは細胞溶解液中に存在するキナーゼを、ATP及びペプチド基質またはポリペプチド基質と一緒にインキュベーションします。キナーゼ活性へのインヒビターまたはアクチベーターの影響を調べるためにそれらの添加も可能です。

使用目的

- インヒビタースクリーニング
- 突然変異効果
- 細胞シグナル現象のモニタリング
- 活性作用のモニタリング
- *in vitro*機能研究

プロトコール

1. 研究ターゲットのキナーゼを含むサンプルをATP及びポリペプチド基質またはペプチド基質と一緒にインキュベーションします。
※スクリーニングまたは機能研究用にインヒビターやアクチベーター（分けて使用可）も添加できます。
2. HRP結合抗体を加えます（キットによっては、検出抗体も必要です）。
3. その後TMB基質を加えます。
4. O.D.450nmで吸光度を測定します。
※各K-LISAキットはキナーゼ活性を迅速に高感度にアッセイできるように最適化されています。

測定原理 (Akt Kinase Activity Kit)

使用例

使用例2.

細胞溶解液から免疫沈降したAktの活性測定 (K-LISA活性キット, Cat.No.CBA019)
 密集に近い濃度のMCF-7細胞を、37°CのCO₂インキュベーターにおいて、IGF-1 (100ng/ml) またはIGF-1 (100ng/ml) と17β-エストロジオール (500nM) で30分間刺激した。Aktの抑制には、まず細胞透過性のAktインヒビターII存在下で、37°CのCO₂インキュベーター内で15分間インキュベーションする。続いて37°Cで30分間IGF-1 (100ng/ml) で刺激した。

使用例3.

リコンビナントヒトChk1、His-Tag[®]、活性測定 (K-LISA Checkpoint活性キット, Cat.No.CBA020)

【メーカー：CBC】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
K-LISA™ Akt Activity Kit	CBA019	1キット	¥ 82,200	劇	凍
K-LISA™ Checkpoint Activity Kit	CBA020	1キット	¥ 74,800	劇	凍
K-LISA™ Ikkβ Inhibitor Screening Kit	CBA044	1キット	¥ 97,100	劇	凍凍
K-LISA™ Aurora Kinase Activity Kit	CBA051	1キット	¥ 97,100	劇	凍
K-LISA™ mTOR Activity Kit	CBA055	1キット	¥ 123,000	毒	凍

関連商品

【メーカー：CBC】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
K-LISA™ PTK E4Y Reaction Plate	539702	1個	¥ 34,800		凍
K-LISA™ PTK EAY Reaction Plate	539703	1個	¥ 34,800		凍
K-LISA™ PTK EY Reaction Plate	539704	1個	¥ 34,800		凍

蛍光キナーゼアッセイキット

構成内容

- Component A: ADP Sensor Buffer
- Component B: ADP Sensor (Light-sensitive)
- Component C: ADP Standard
- Component D: ADP Assay Buffer

使用目的

多くのキナーゼアッセイキットがリン酸化ペプチドの形成もしくはATP欠失をモニタリングに焦点をあてていますが、本キットは ADP形成をモニタリングすることでそれに比例するリン酸化転移酵素活性を蛍光測定します。

【メーカー：ABD】

品名	測定波長 (nm)	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Amplite™ Universal Fluorimetric Kinase Assay Kit *Red Fluorescence*	Ex 571/Em 585	31001	1キット	¥ 57,000		☉

DuoSet® IC (Intracellular) Kinase Assay シリーズ

特長

- 便利
- 高感度
- リン酸化およびtotalを選択可能

構成内容

- 捕捉抗体
- 検出抗体
- スタンダード
- ストレプトアビジン-HRP

プロトコール は、105ページ参照

細胞内キナーゼ活性のELISAシリーズ

使用目的

DuoSet® IC (Intracellular) Kinase AssayはサンドイッチELISAディベロップメントに必要な捕捉抗体、検出抗体、スタンダードおよびストレプトアビジン-HRPの入ったキットです。このシリーズでは細胞溶解液中のキナーゼのELISA測定キットです。様々なリン酸化キナーゼ及びTotalキナーゼについてご用意しました。

【メーカー：RSD】

品名	適用種	2プレート用品番	5プレート用品番	15プレート用品番	毒劇	貯蔵
		¥ 76,000	¥ 155,000	¥ 318,000		
Total Akt1	HU/MS/RAT	DYC1775-2	DYC1775-5	DYC1775E		☉
Phospho-Akt1 (S473)	HU/MS/RAT	DYC2289-2	DYC2289-5	DYC2289E		☉
Phospho-Akt (S473) Pan	HU/MS/RAT	DYC887-2	DYC887-5	DYC887E		☉
Total ERK1	HU	DYC1940-2	DYC1940-5	DYC1940E		☉
Phospho-ERK1 (T202/Y204)	HU/MS/RAT	DYC1825-2	DYC1825-5	DYC1825E		☉
Total ERK2	HU/MS/RAT	DYC1230-2	DYC1230-5	DYC1230E		☉
Phospho-ERK2 (T185/Y187)	HU/MS/RAT	DYC1483-2	DYC1483-5	DYC1483E		☉
Phospho-ERK1/ERK2	HU/MS/RAT	DYC1018-2	DYC1018-5	DYC1018E		☉
Total GSK-3 α/β	HU/MS/RAT	DYC2157-2	DYC2157-5	DYC2157E		☉
Phospho-GSK-3 α/β (S21/S9)	HU/MS/RAT	DYC2630-2	DYC2630-5	DYC2630E		☉
Phospho-GSK-3 β (S9)	HU/MS/RAT	DYC1590-2	DYC1590-5	DYC1590E		☉
Total JNK Pan Specific	HU/MS/RAT	DYC1205-2	DYC1205-5	DYC1205E		☉
Phospho-JNK Pan Specific	HU/MS/RAT	DYC1387-2	DYC1387-5	DYC1387E		☉
Total JNK1	HU/MS/RAT	DYC1776-2	DYC1776-5	DYC1776E		☉
Total JNK2	HU/MS/RAT	DYC1846-2	DYC1846-5	DYC1846E		☉
Phospho-JNK2 (T183/Y185)	HU/MS/RAT	DYC2236-2	DYC2236-5	DYC2236E		☉
Total p38 α	HU/MS/RAT	DYC8691B-2	DYC8691B-5	DYC8691BE		☉
Phospho-p38 α (T180/Y182)	HU/MS/RAT	DYC869-2	DYC869-5	DYC869E		☉
Total p38 γ	HU/MS/RAT	DYC1347-2	DYC1347-5	DYC1347E		☉
Phospho-p38 γ (T183/Y185)	HU/MS/RAT	DYC1664-2	DYC1664-5	DYC1664E		☉
Total p38 δ	HU	DYC1519-2	DYC1519-5	DYC1519E		☉
Phospho-p38 δ (T180/Y182)	HU	DYC2124-2	DYC2124-5	DYC2124E		☉
Total p70 S6 Kinase	HU/MS/RAT	DYC8962-2	DYC8962-5	DYC8962E		☉
Phospho-p70 S6 Kinase (T389)	HU	DYC896-2	DYC896-5	DYC896E		☉
Phospho-p70 S6 Kinase (T421/S424)	HU/MS/RAT	DYC8965-2	DYC8965-5	DYC8965E		☉
Phospho-RSK (S380) Pan	HU/MS/RAT	DYC889-2	DYC889-5	DYC889E		☉
Phospho-RSK1 (S380)	HU/MS/RAT	DYC892-2	DYC892-5	DYC892E		☉
Phospho-TOR (S2448)	HU	DYC1665-2	DYC1665-5	DYC1665E		☉

Surveyor™ IC ELISA Kit シリーズ

使用目的

R&D Systems社の新しい「Surveyor™ IC (IntraCellular) ELISA kit」シリーズは、シグナル伝達における重要な因子の測定を迅速にそして簡単に行えるツールです。このキットはマイクロプレートに基づくサンドイッチ法ELISAを行うのに必要なコンポーネントが全て揃っています。細胞溶解バッファから、スタンダード、そして高品質のR&D systems社の抗体、さらに簡単にアッセイを行える詳細なプロトコル(英文)も入っています。

特長

- 完全キット(細胞溶解バッファおよびスタンダード含)
- 高い特異性
- 高感度
- ウェスタンブロットよりも優れたアッセイ
- 迅速で簡単なマイクロプレートに基づくフォーマット
- 比色検出法
- 定量解析
- 少量のサンプルで解析可能
- 再現性が高い

構成内容

- 細胞溶解バッファ
- コート済みマイクロプレート
- ストレプトアビジン-HRP
- プレートシーラー
- 試薬希釈溶液
- カラー試薬A
- スタンダード
- 検出試薬
- 反応停止溶液
- サンプル希釈溶液
- 洗浄バッファ
- カラー試薬B

PMAで処理した子宮頸癌細胞(HeLa)と未処理のHeLa細胞。いくつかのPMAで処理したHeLa細胞は予め、リン酸化インヒビターのU0126またはPD98059で処理をした。これらの細胞の溶解液中のリン酸化ERK2を、Phospho-ERK2(T185/Y187)Surveyor IC ELISA Kit(Cat.#SUV1483)を用いてアッセイした。結果は、ウェスタンブロットにより検出されたリン酸化ERK2の総量に関連している。上のプロットの低分子重量バンドがリン酸化ERK2に相当する。

【メーカー：RSD】

品名	測定範囲	適用種	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Phospho-Akt (S473) Pan Specific Surveyor™ IC ELISA Kit	0.31-20ng/ml	HU/MS/RAT	SUV887	1キット	¥ 99,000	☑	☑
Phospho-ERK2 (T185/Y187) Surveyor™ IC ELISA Kit	0.19-12ng/ml	HU/MS/RAT	SUV1483	1キット	¥ 99,000	☑	☑
Phospho-p38 α (T180/Y182) Surveyor™ IC ELISA Kit	62.5-4000pg/ml	HU/MS/RAT	SUV869	1キット	¥ 110,000	☑	☑

セルベースELISAキット

2つのタンパク質を同じマイクロプレート上で

同時に測定

背景

セルベースELISAキットは、2つのタンパク質を同じマイクロプレート上で同時に測定する新しいツールです。下記の2つのキットがあります。

- リン酸化タンパク質とトータルタンパク質を同時に検出するリン酸化タンパク質キット
- 目的のタンパク質とハウスキープタンパク質を同じウェル上で解析するトータルタンパク質キット

特長

- ウェル間の変動を標準化
- デュアルカラー蛍光検出
- 特別な機器は不要
- セルライセート処理が不要
- 10,000 cells/wellからの検出が可能

検出原理

【メーカー：RSD】

品名	検出タンパク質①	検出タンパク質②	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Akt, phospho Ser473, Cell-Based ELISA	Akt, phospho Ser473	Total Akt	KCB887	1キット	¥ 94,000	☑	☑
EGF Receptor, phospho Tyr1068 Cell-Based ELISA	EGF Receptor, phospho Tyr1068	Total EGF Receptor	KCB1095	1キット	¥ 94,000	☑	☑
ERK1/ERK2, phospho Thr202/Tyr204 Cell-Based ELISA	ERK1/ERK2, phospho Thr202/Tyr204	Total ERK1/ERK2	KCB1018	1キット	¥ 83,000	☑	☑
HGF R/c-MET, phospho Tyr1234/Tyr1235 Cell-Based ELISA	HGF R/c-MET, phospho Tyr1234/Tyr1235	Total HGF R/c-MET	KCB2480	1キット	¥ 94,000	☑	☑
MEK1, phospho Ser218/Ser222, MEK2, phospho Ser222/Ser226, Cell-Based ELISA	MEK1, phospho Ser218/Ser222	MEK2, phospho Ser222/Ser226	KCB2506	1キット	¥ 94,000	☑	☑
p38 MAP Kinase, phospho Thr180/Tyr182, Cell-Based ELISA	p38 MAP Kinase, phospho Thr180/Tyr182	Total p38 MAP Kinase	KCB869	1キット	¥ 94,000	☑	☑
p70, phospho S6 Kinase, Thr389, Cell-Based ELISA	p70, phospho S6 Kinase	Total p70	KCB8963	1キット	¥ 94,000	☑	☑
PDGF Receptor, phospho Tyr1021 Cell-Based ELISA	PDGF Receptor, phospho Tyr1021	Total PDGF Receptor	KCB2316	1キット	¥ 94,000	☑	☑
PDGF Receptor β, phospho Tyr751, Cell Based ELISA	PDGF Receptor β, phospho Tyr751	Total PDGF Receptor β	KCB1767	1キット	¥ 94,000	☑	☑
STAT6, phospho Tyr641, Cell Based ELISA	STAT6, phospho Tyr641	Total STAT6	KCB3717	1キット	¥ 94,000	☑	☑
Total HIF-1 α Cell-Based ELISA	HIF-1 α	Total Cytochrom c	KCB1935	1キット	¥ 94,000	☑	☑
Total HSP70 Cell Based ELISA	Total HSP70	Total Cytochrom c	KCB1663	1キット	¥ 75,000	☑	☑

RT² Profiler™ PCR アレイ

高感度のリアルタイムPCRを利用してパスウェイに
焦点をあてた遺伝子発現解析

使用目的

PCRアレイは、96(または384)ウェルプレートに、84種類*のパスウェイ特異的遺伝子のプライマーセットと、ハウスキーピング遺伝子、様々な機能を備えたコントロールがアレイされています。プライマーセットは、SYBR® Green 検出法に最適化されていて、リアルタイムPCRにより、異なるサンプル間における遺伝子発現の相対変化をみることができます。

またPCRアレイを、その他のシステム商品(マスターミックス、cDNA合成キット、RNA QC用PCRアレイ)と組み合わせて使用することで、リアルタイムPCR実験の信頼性と再現性を確実のものにします。

*これらのプライマーセットは、SYBR® Green検出法に最適化されています。

*SYBR®は、Molecular Probes, Incの登録商標です。

※PCRアレイ384HTは370種類

特長

- 84種類のパスウェイ特異的遺伝子を同時にプロファイリング
- 高感度(RNA量:25ng~5μg)、広いダイナミックレンジ(5桁)
- ほとんどのリアルタイムPCR装置に対応
- コントロール機能が充実!

RNAのクオリティをサンプルラン前もラン中もチェック可能

- シンプルな操作で時間も大幅短縮

お客様の研究内容に即したRT² Profiler™ PCR Arrayを作成する受託サービスもご用意しています。

構成内容

- プライマーセットが入った96ウェルプレート
- その他必要な試薬は、使用手順の欄をご参照ください。

技術情報 は、107ページ参照

プロトコール

サンプル(組織や細胞)からRNAを抽出

最低25ngのトータルRNAからスタートしてください(推奨量は1.0μg)。

DNaseで処理しておきます。

RNAサンプルからcDNAを調製

RT² First Strand Kit(品番:C-03)を使用して、cDNAを合成します。

RT² マスターミックスとcDNAを混合

お手持ちのリアルタイムPCR装置に適したRT² Real-Time™ SYBR Green PCR マスターミックスとcDNAサンプルを混合します。

PCRアレイ各ウェルに混合した試薬を添加

各PCRアレイは、84種類*のパスウェイ特異的遺伝子とコントロール遺伝子の発現をプロファイリングできます。

※PCRアレイ384HTは370種類

リアルタイムPCRの実行

お手持ちのリアルタイムPCR装置のソフトウェアを用いて、リアルタイム増幅データを収集します。

ΔΔCt法により発現のFold Changeを解析

SA バイオサイエンス社ウェブ

(<http://www.sabioscience.com/manuals/pcrarrayDataanalysisV3.xls>) より

データ解析テンプレート(Excelファイル:無償)をダウンロードし、得られたCt値データをスプレッドシートにコピー&ペーストして解析します。この解析では、3Dプロファイル、ボルケーノプロット、スカッタープロットデータが得られます(下記データ参照)。

20分

数分

数分

2.0~2.5時間

数分

RT² Profiler™ PCRアレイ3.0のレイアウト

◆ PCRアレイレイアウト (96ウェル用、2、12、または24アレイ入り)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Gene 1	Gene 2	Gene 3	Gene 4	Gene 5	Gene 6	Gene 7	Gene 8	Gene 9	Gene 10	Gene 11	Gene 12
B	Gene 13	Gene 14	Gene 15	Gene 16	Gene 17	Gene 18	Gene 19	Gene 20	Gene 21	Gene 22	Gene 23	Gene 24
C	Gene 25	Gene 26	Gene 27	Gene 28	Gene 29	Gene 30	Gene 31	Gene 32	Gene 33	Gene 34	Gene 35	Gene 36
D	Gene 37	Gene 38	Gene 39	Gene 40	Gene 41	Gene 42	Gene 43	Gene 44	Gene 45	Gene 46	Gene 47	Gene 48
E	Gene 49	Gene 50	Gene 51	Gene 52	Gene 53	Gene 54	Gene 55	Gene 56	Gene 57	Gene 58	Gene 59	Gene 60
F	Gene 61	Gene 62	Gene 63	Gene 64	Gene 65	Gene 66	Gene 67	Gene 68	Gene 69	Gene 70	Gene 71	Gene 72
G	Gene 73	Gene 74	Gene 75	Gene 76	Gene 77	Gene 78	Gene 79	Gene 80	Gene 81	Gene 82	Gene 83	Gene 84
H	HK1	HK2	HK3	HK4	HK5	GDC	RTC	RTC	RTC	PPC	PPC	PPC

A1-G12ウェル(Gene1-84) : 84種類のバスウェイ特異的遺伝子のプライマー

H1-H5ウェル(HK1-5) : 5種類 (B2M, HPRT1, RPL13A, GAPDH, ACTB) のハウスキーピング遺伝子のプライマー
→PCRアレイデータの正規化に利用します。

H6ウェル(GDC) : ゲノムDNAコントロール

→転写ゲノムDNAを特異的に検出するプライマーにより、ゲノムDNAのコンタミを高感度に検出します。

H7-H9ウェル(RTC) : 逆転写反応コントロール

→built-in external RNAから合成されたアンプリコンを検出できるプライマーにより、RT First Strand Synthesis Kit(品番:C-03)のcDNA合成効率を確認できます。

● built-in external RNAは、RT² First Strand Synthesis Kit (品番:C-03)に含まれています。

H10-H12ウェル(PPC) : ポジティブPCRコントロール

→人工のDNA配列とそれを検出できるプライマーセットが入っており、PCR効率を確認できます。

① RTCとPPCのレプリケートコントロールウェルは、ウェル間及びプレート間の一貫性を確認できます。

◆ PCRアレイレイアウト (384ウェル用、4アレイ入り)*

ABI 7900HT 384-well Block、Roche Light Cycler 480 384 well Block用にデザインされています。

*PCRアレイ3.0は別売りしますのでご注意ください。

RT² Profiler™ PCR Arrayの性能

● 感度

低レベルの遺伝子発現で知られているバスウェイ (inflammatory cytokines and receptors) のPCRアレイにおいて、25ngから5μgのトータルRNAを使用して80%以上の陽性シグナル (percent present call) を得ることができます。

XpressRef Human Universal Total RNA (品番: GA-004) の量を変えて (25, 50, 100, 500, 1000ng)、Human Inflammatory Cytokines and Receptors PCRアレイ (品番: APHS-011) の解析。Percent Positive Call (Ct値が35以下の遺伝子数の割合) を測定し、インプットRNA量のlog₁₀に対してプロットしました。

● 再現性

レプリケート間、ロット間、機器間で平均相関係数0.99以上という高い相関性を有しますので、サンプル間の発現相違において信頼できる結果を得ることができます。

● 特異性

クオリティの高いインプットRNAを使用すれば、予想したサイズのシングルバンドを得ることができます。プライマーダイマーやその他増幅二次産物の心配はありません。

XpressRef Human Universal Total RNA (品番: GA-004) を、RT² Real-Time SYBR Green/Fluorescein PCR Master Mix (品番: PA-011) と Human TGFβ & BMP Signaling Pathway PCR Array (品番: APHS-035A) とで解析しました。Bio-Rad iCyclerRで得られた標準解離曲線 (上図) と、増幅産物をアガロースゲル電気泳動で解析しました (下図)。

● 相関性

他の遺伝子解析方法 (TaqManアッセイ) と高い相関性を示します。

MAQC (MicroArray Quality Control) プロジェクトでは、2つのリファレンスサンプル間の遺伝子発現変化を測定してPCRアレイとTaqManアッセイとを比較した。これら2種類の手法で測定した遺伝子発現のlog₂ fold differenceを、二変量解析で比較した。灰色の点線は1の直線を示し、黒の点線はデータの直線回帰 (R=0.97) を示す。

ご注意

RT² Profiler™ PCR Arrayの性能は、RT² Real-Time™ SYBR Green PCRマスターミックスおよびRT² PCR Array First Strand Kitと併用した場合に限り保証しています。SAバイオサイエンス社商品をご組み合わせることで、正確かつ高精度なリアルタイムPCRプロファイリングデータを得ることができます。他社製品との組み合わせでご利用の場合には、RT² Profiler™ PCR Arrayの品質保証は致しかねますので予めご了承ください。

ステップ① 研究対象となるPCRアレイを選択し、品番を製作

① の商品は、PCRアレイ384HTの商品※注2です。

表1. カatalog商品としてご利用いただけるRT²Profiler™ PCR Array 3.0

パスウェイ	Human	Mouse	Rat
Alzheimer's Disease	PAHS-057X	PAMM-057X	—※注1
Angiogenic Growth Factors and Angiogenesis Inhibitors	PAHS-072X	PAMM-072X	—※注1
Angiogenesis	PAHS-024X	PAMM-024X	PARN-024X
Apoptosis	PAHS-012X	PAMM-012X	PARN-012X
Atherosclerosis	PAHS-038X	PAMM-038X	—※注1
Autophagy	PAHS-084X	PAMM-084X	—※注1
Breast Cancer and Estrogen Receptor Signaling	PAHS-005X	PAMM-005X	PARN-005X
cAMP/Calcium Signaling Pathway	PAHS-066X	PAMM-066X	—※注1
Cancer Drug Resistance and Metabolism	PAHS-004X	PAMM-004X	—※注1
Cancer PathwayFinder™	PAHS-033X	PAMM-033X	PARN-033X
Cell Cycle	PAHS-020X	PAMM-020X	PARN-020X
Cell Surface Markers	PAHS-055X	—	—※注1
Chemokines and Receptors	PAHS-022X	PAMM-022X	PARN-022X
Common Cytokines	PAHS-021X	PAMM-021X	PARN-021X
Dendritic & Antigen Presenting Cell	PAHS-406X	—	—※注1
Diabetes	PAHS-023X	PAMM-023X	PARN-023X
DNA Damage Signaling Pathway	PAHS-029X	PAMM-029X	PARN-029X
Drug Metabolism	PAHS-002X	PAMM-002X	PARN-002X
Drug Metabolism Phase I Enzymes	PAHS-068X	—	PARN-068X
Drug Metabolism Phase II Enzymes	PAHS-069X	—	PARN-069X
Drug Transporters	PAHS-070X	—	PARN-070X
Embryonic Stem Cells	PAHS-081X	PAMM-081X	—※注1
EGF/PDGF Signaling Pathway	PAHS-040X	—	PARN-040X
Endothelial Cell Biology	PAHS-015X	PAMM-015X	PARN-015X
Extracellular Matrix and Adhesion Molecules	PAHS-013X	PAMM-013X	PARN-013X
G-Protein-Coupled Receptor Signaling PathwayFinder™	PAHS-071X	—	PARN-071X
Growth Factors	PAHS-041X	PAMM-041X	PARN-041X
Hedgehog Signaling Pathway	PAHS-078X	PAMM-078X	—※注1
Heat Shock Proteins	PAHS-076X	PAMM-076X	—※注1
Hematopoietic Stem Cells and Hematopoiesis	PAHS-054X	—	—※注1
HIV Infection and Host Response	PAHS-051X	—	—※注1
Hox (HOX) Genes	PAHS-083X	PAMM-083X	—※注1
Housekeeping Genes	PAHS-000X	PAMM-000X	PARN-000X
Hypoxia Signaling Pathway	PAHS-032X	PAMM-032X	PARN-032X
Inflammatory Cytokines and Receptors	PAHS-011X	PAMM-011X	PARN-011X

※注1: ラット用は最小購入量2×12アレイ (希望販売価格: ¥504,000~) から作製可能です。
 ※注2: PCRアレイ384HTシリーズは、96ウェルプレートタイプと希望販売価格が異なります。詳細はご照会ください。
 (PCRアレイ384HTシリーズ対応機器: ABI 7900HT 384-well Block、Roche LightCycler 480 (384ウェル用))

表2. 各種リアルタイムPCR装置のプレートタイプ

リアルタイムPCR装置	プレートタイプ (X=)	
Applied Biosystems	ABI 7000、ABI 7300	A
	ABI 7500 Standard Block	A
	ABI 7500 FAST Block	C
	ABI 7900HT Standard 96 Block	A
	ABI 7900HT FAST 96 Block	C
	ABI 7900HT 384-well Block	E
	ABI 5700 (Perkin Elmer)	A
	ABI 7700 (Perkin Elmer)	A
	ABI Step OnePlus™	C
Bio-Rad	iCycler®	A
	MiyiQ®	A
	Chromo 4 (MJ Research)	A
Stratagene	Opticon (2) (MJ Research)	D
	Mx3005p	A
	Mx3000p	A
	Mx4000	D
Roche	Eppendorf社 Mastercycler ep realx	A
	LightCycler 480 96ウェル用	F
	LightCycler 480 384ウェル用	G

① タカラバイオ社リアルタイムPCR装置の適用についてはご照会ください。

パスウェイ	Human	Mouse	Rat
Inflammatory Response & Autoimmunity	PAHS-077X	PAMM-077X	—※注1
	PAHS-3803X	PAMM-3803X	—※注1
Innate & Adaptive Immune Responses	PAHS-052X	PAMM-052X	—※注1
Insulin Signaling Pathway	PAHS-030X	PAMM-030X	PARN-030X
Interferon α, β Response	PAHS-016X	PAMM-016X	—※注1
Interferon and Receptors	PAHS-064X	PAMM-064X	—※注1
JAK/STAT Signaling Pathway	PAHS-039X	PAMM-039X	PARN-039X
Lipoprotein Signaling & Cholesterol Metabolism	PAHS-080X	PAMM-080X	PARN-080X
MAP Kinase Signaling Pathway	PAHS-061X	PAMM-061X	PARN-061X
Mesenchymal Stem Cells	PAHS-082X	PAMM-082X	—※注1
Neurogenesis and Neural Stem Cell	PAHS-404X	PAMM-404X	—※注1
Neuroscience Ion Channels and Transporters	PAHS-036X	PAMM-036X	PARN-036X
Neurotransmitter Receptors & Regulators	PAHS-060X	PAMM-060X	PARN-060X
Neurotrophins and Receptors	PAHS-031X	PAMM-031X	PARN-031X
NFκB Signaling Pathway	PAHS-025X	PAMM-025X	PARN-025X
Nitric Oxide Signaling Pathway	PAHS-062X	PAMM-062X	PARN-062X
Notch Signaling Pathway	PAHS-059X	PAMM-059X	—※注1
Nuclear Receptors & Coregulators	PAHS-056X	PAMM-056X	PARN-056X
Obesity	—	PAMM-017X	PARN-017X
Osteogenesis	PAHS-026X	PAMM-026X	PARN-026X
Oxidative Stress & Antioxidant Defense	PAHS-065X	PAMM-065X	PARN-065X
p53 Signaling Pathway	PAHS-027X	PAMM-027X	PARN-027X
PI3K-AKT Signaling Pathway	PAHS-058X	—	—※注1
Signal Transduction PathwayFinder™	PAHS-014X	PAMM-014X	PARN-014X
Stem Cell	PAHS-405X	PAMM-405X	PARN-405X
Stress and Toxicity PathwayFinder	PAHS-003X	PAMM-003X	PARN-003X
Stress Response to Cellular Damage	—	PAMM-019X	—※注1
T-Cell and B-Cell Activation	PAHS-053X	PAMM-053X	—※注1
T-Cell Energy and Immune Tolerance	—	PAMM-074X	—※注1
TGFβ/BMP Signaling Pathway	PAHS-035X	PAMM-035X	PARN-035X
Th1-Th2-Th3	PAHS-034X	PAMM-034X	PARN-034X
Th17 for Autoimmunity and Inflammation	PAHS-073X	PAMM-073X	—※注1
TNF Ligands and Receptors	PAHS-063X	PAMM-063X	—※注1
Toll-Like Receptor Signaling Pathway	PAHS-018X	PAMM-018X	PARN-018X
Transcription Factors	PAHS-075X	—	—※注1
Tumor Metastasis	PAHS-028X	PAMM-028X	—※注1
Ubiquitination (Ubiquitylation)	PAHS-079X	PAMM-079X	PARN-079X
WNT Signaling Pathway	PAHS-043X	PAMM-043X	PARN-043X

表3. PCRアレイの包装・希望販売価格

PCR Arrayの包装	希望販売価格	品番末尾
2アレイ入り (96ウェル)	¥ 95,000	-2
12アレイ入り (96ウェル)	¥ 294,000	-12
24アレイ入り (96ウェル)	¥ 462,000	-24
4アレイ入り (384ウェル) ※E, Gタイプのみ	¥ 210,000	-4

このPCR Arrayは、ホットブロックのフォーマットが異なるため、Cepheid社 SmartCycler®、Roche社 LightCycler® 2.0、Corbett Research社 RotorGene®でのご使用にはおすすめておりません。SmartCycler®はCepheid社の、LightCycler® 2.0はRoche Applied Scienceの登録商標です。i-Cycler®及びMiyiQ®はBio-Rad Laboratoriesの登録商標です。Applied Biosystems®はApplied Biosystems Corporationの登録商標です。

品番の作り方

① ご使用のリアルタイムPCR装置、ご希望の包装によって品番が異なります。下記の「品番の作り方」をご参照いただき注文品番を作製してください。

例: お手持ちのリアルタイムPCR装置が「ABI 7000」で、ヒト用 Angiogenesis パスウェイのPCRアレイ (12アレイ用) をご購入希望の場合

① PAHS-024X (①表1から、ご興味のあるパスウェイの品番を選択します。)

↓

② PAHS-024A (②表2から、お手持ちのリアルタイムPCR装置に適したプレートタイプ (A~G) を選択し、①の品番末尾の「X」をプレートタイプA~Gに変えます。)

↓

③ PAHS-024A-12 (③表3から、ご希望の包装 (-2, -12, -24, -4) を選択し、②で得られた品番の末尾に加えます。)

ステップ② RT² Real-Time™ リアルタイムPCRアッセイ用マスターミックスの選択

お手持ちのリアルタイムPCR装置に適したマスターミックスを選択してください。

背景

SYBR® GreenベースのリアルタイムPCRでは、マスターミックスのクオリティが重要な鍵を握っています。

特長

- ユニークな酵素を開発：
抗体技術を用いた従来のホットスタート酵素では、低温で一部酵素活性を残しているために非特異的な増幅が起こっていました。SAバイオサイエンス社では、高い技術をもって化学修飾したホットスタートTaq DNAポリメラーゼを採用することで、従来よりも高い特異性と増幅効率を実現します。
- 独自の化学成分を添加：
SAバイオサイエンス社では、プライマーダイマーの形成を最小限に抑え、増幅が難しいとされる遺伝子の増幅にも効率よく反応するよう、独自仕様の化学成分をマスターミックスに加えています。

▲ 他社との比較 (A：増幅曲線、B：解離曲線)
SAバイオサイエンス社のマスターミックスと他社製品を用いて、ヒトACTBのRNA発現を比較した。SAバイオサイエンス社のマスターミックスは、他3社に比べてSYBR® Greenのシグナル強度と増幅効率はともに高い結果が得られた。

【メーカー：SPA】

リアルタイムPCR装置	品名	包装／希望販売価格／品番			
		2アレイ用 (200反応分) ¥40,000	12アレイ用 (1,200反応分) ¥210,000	24アレイ用 (2,400反応分) ¥336,000	バルク用 (2,000反応分) ¥294,000
Applied BioSystems®, Stratagene (Mx3005p, Mx3000p, Mx4000) Eppendorf	RT ² Real-Time™ PCR SYBR® Green/ROX	PA-012	PA-012-12	PA-012-24	PA-112
iCycler®, MyiQ®	RT ² Real-Time™ PCR SYBR® Green/Fluorescein	PA-011	PA-011-12	PA-011-24	PA-111
Generic Real-Time [BioRad (MJ Research) Chrome4, Opticon (2),Roche LightCycler 480]	RT ² Real-Time™ PCR SYBR® Green	PA-010	PA-010-12	PA-010-24	PA-110

それぞれのマスターミックスは、2 x Solutionです。詳細は、弊社ウェブ (http://www.cosmobio.co.jp/product/products_SPA_20060803.asp) をご覧ください。

ステップ③ cDNA合成キットの購入

PCRアレイ用に最適化！RNAのコントロール入り。RNAサンプル中のゲノムDNAを除去します。

RNAサンプルから一本鎖cDNAを効率良く合成するために必要な試薬が全て揃っています。

特長

- 最適化されたDNA除去バッファーによってゲノムDNAによる偽陽性シグナルを防ぎます。
- 迅速かつ簡単なプロトコール:キットには、ゲノムDNAの除去バッファー、1本鎖cDNA合成に必要な試薬が全て含まれており、20分でcDNA合成が可能です。
- より少ない量のRNAサンプルで、より多くの発現遺伝子を確認できます。
- built-in external RNAコントロールが含まれていますので、逆転写反応の効率と一貫性を確認できます。
- サンプルRNAを加えるだけの、オールインワンキットです。

構成内容

- 5×ゲノムDNA除去バッファー
- 5×逆転写バッファー
- RNase フリー水
- プライマー & External コントロールミックス
- 逆転写酵素ミックス

【メーカー：SPA】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
RT ² First Strand Kit	C03	1キット (12サンプル用)*	¥42,000		凍

* 1サンプル=1プレート (96well)

マスターミックスとcDNA合成キットのセット品をお求めやすい価格でご提供！

SAバイオサイエンス社では、RT² Profiler™ PCR Arrayの性能は、RT² Real-Time SYBR Green PCR マスターミックスおよび RT² First Strand Kitと併用した場合に限り保証しています。SAバイオサイエンス社商品を組み合わせることで、正確かつ高精度なリアルタイムPCRプロファイルングデータを得ることができます。

※他社製品をご使用の場合、RT² Profiler™ PCR Arrayの品質保証は致しかねますのでご了承ください。

こんなにお得です!!

12アレイの場合	24アレイの場合
マスターミックス 1,200 反応分 ¥210,000 + cDNA 合成キット ¥42,000 合計 ¥252,000 セット品だと... ¥63,000 もお得!! ¥189,000	マスターミックス 2,400 反応分 ¥336,000 + cDNA 合成キット 2 キット分 ¥84,000 合計 ¥420,000 セット品だと... ¥105,000 もお得!! ¥315,000

Cignal™ レポーターアッセイシステム

迅速にパスウェイシグナリング活性を解析できる

セルベースアッセイ

背景

Cignal™ レポーターアッセイシステムは、デュアルルシフェラーゼまたは GFPレポーターシステムを用いて転写因子の活性を測定することにより、様々な細胞のパスウェイシグナリング活性をモニタリングできる商品です。本キットは、培養細胞中のパスウェイの活性を解析、研究対象のパスウェイ上における siRNA や化合物など、処理効果を迅速に測定できます。

適用

- 機能ゲノミクス- RNAi
遺伝子発現ノックダウンツールを用いて作用のメカニズムを立証
- 機能ゲノミクス-過剰発現
プラスミドやウイルス系発現ベクターで発現させた目的遺伝子産物のパスウェイ特有の生物学的影響を解析
- 機能プロテオミクス
リコンビナントタンパク質やペプチドのパスウェイ特有の機能的影響を研究
- ドラッグスクリーニング
小分子や有機化合物のパスウェイ特有の薬効薬理を測定

使用例：p53siRNA処理により影響を受けたシグナリングパスウェイの同定

最もよく研究されている腫瘍抑制遺伝子はp53です。セルラインにおけるp53の生物学的機能を調べるために、p53のノックダウンによって影響を受けるシグナリングパスウェイを知ることは重要です。下記使用例のように、Cignal Finder™ Cancer 10-パスウェイレポーターアレイ (品番：CCA-101L) は、p53のノックダウンによって調節された癌シグナリングパスウェイを同定するうえで極めて有用なツールです。

図1. HEK-293H細胞は、Cancer 10-パスウェイレポーターアレイプレートから各レポーターアッセイとネガティブコントロールを組み合わせて、ネガティブコントロールsiRNAまたはp53 siRNAのいずれかと共トランスフェクション。リバーストランスフェクションしてから16時間後に培地をアッセイ培地に交換、48時間後にデュアルルシフェラーゼアッセイを行い、結果をfold-changeとして示した。Fold-changeは、p53 siRNAと共トランスフェクションした各パスウェイ特異的レポーターの正規化したルシフェラーゼ活性値を、ネガティブコントロールsiRNAと共トランスフェクションした各パスウェイ特異的レポーターの正規化したルシフェラーゼ活性値で割って計算したものである。4重に測定した標準偏差を示す。

Cignal™ レポーターアッセイ

パスウェイシグナリング活性を迅速に測定する

セルベースアッセイ

転写因子活性の測定により、シグナル伝達パスウェイ活性を迅速かつ高感度に定量できるシステムです。siRNA、タンパク質、小分子化合物の生物学的インパクトを評価するドラッグディスカバリーや機能ゲノミクスにおいて有用です。レポーターにルシフェラーゼとGFPを用いた2つのフォーマットからお選びいただけます。

[デュアルルシフェラーゼフォーマット]

目的の転写因子応答レポーターコンストラクトを用いて、対応するパスウェイシグナリングの活性化を測定できます。ホタルルシフェラーゼを用いて転写因子の活性化を測定し、培養細胞中のパスウェイの活性を解析、研究対象のパスウェイ上におけるsiRNAや化合物など、処理効果を迅速に測定できます。また、細胞生存のモニタリングトランスフェクション効率の正規化(内部コントロール)には、ウミシイタケルシフェラーゼコンストラクトを用います。

- 定量的エンドポイントルミネッセンスアッセイ
- 非常に優れた再現性、感度、S/N比
- 細胞集団から得る平均的な発現

特長

- 優れた再現性
確認済みのデュアルレポーター設計が、各実験系の生物学的関連性を高め、ばらつきを最小限にします。
- 多様性を改善
アップレギュレーションおよびダウンレギュレーションの両方をモニタリングできます。
- 高感度
不安定化ルシフェラーゼを使用することで、S/N比を高め、アッセイ感度を最大限にします。また、ユニークな特異的転写調節領域(TRE: Transcriptional Element)により、感度・特異性、S/N比を向上させています。
- 便利
ポジティブおよびネガティブコントロールをはじめとするReady-to-useコンストラクトが、一過性のレポーターシステムと一体となっています。

図2. プロトコール

構成内容

- ※トランスフェクショングレード (Ready-to-use) です。
- レポーターアッセイ (図2、図3の **A**、**B**) ※5×96ウェルプレート分
- ネガティブコントロール (図2、図3の **C**、**B**) ※5×96ウェルプレート分
- ポジティブコントロール (図2、図3の **D**、**E**、**B**) ※2.5×96ウェルプレート分
- ※別途デュアルルシフェラーゼレポーターアッセイシステム (Promega社品番: E1910) が必要です。

図3. 構成内容
 A: 誘導性転写因子応答ホタルルシフェラーゼコンストラクト
 B: 構成的発現ウミシイタケルシフェラーゼコンストラクト
 C: 非誘導性ホタルルシフェラーゼレポーターコンストラクト
 D: 構成的発現GFPルシフェラーゼコンストラクト
 E: 構成的発現ホタルルシフェラーゼコンストラクト

図4. 使用例
 NFκBレポーターアッセイでは、293H細胞におけるTNFα活性が、リコンビナントタンパク質の処理後に用量依存的に見られた。

[GFPフォーマット]

生細胞のパスウェイレギュレーションをモニタリングするのに適しています。

- 動的な生細胞アッセイ
- 単一細胞レベルの解析
- フレキシブルな測定方法 (フローサイトメトリー、高含量スクリーニング、蛍光顕微鏡、蛍光光度法)

図5. 使用例 (蛍光顕微鏡):
 Cignal™ NFκB GFPレポーターにより、ヒトTNFαによるNFκBシグナリングパスウェイの活性化を検出。293-H細胞にCignal™ NFκB-GFPレポーターまたはネガティブコントロールをトランスフェクション。16時間後、培地をアッセイ培地 (Opti-MEM+0.5%、FBS+0.1mM、NEAA+1mM、Sodium pyruvate+100U/ml、penicillin+100μg/ml、streptomycin) に交換。さらに24時間後、細胞を10ng/ml hTNFαで処理し、処理18時間後に明視野と蛍光イメージを撮影。AとBはネガティブコントロールレポーター、CとDはCignal NFκB-GFPレポーター。

構成内容

- ※トランスフェクショングレード (Ready-to-use) です。
- パスウェイ特異的GFPレポーターアッセイ (図6の **A**)
- ネガティブコントロール (非誘導性GFPレポーター) (図6の **B**)
- ポジティブコントロール (構成的発現GFPレポーター) (図6の **C**)

図6. プロトコル

[メーカー: SPA]

Signal™ レポーターアッセイ

パスウェイ	転写因子	品番/包装/希望販売価格	
		デュアルルシフェラーゼ ¥95,000/1キット	GFP ¥95,000/1キット
Androgen	Androgen Receptor	CCS-1019L	
Antioxidant Response	Nrf2 & Nrf1	CCS-5020L	
C/EBP	C/EBP	CCS-001L	
cAMP/PKA	CREB	CCS-002L	CCS-002G
Cell Cycle	E2F/DP1	CCS-003L	
p53/DNA Damage	p53	CCS-004L	
EGR1	EGR1	CCS-8021L	
Estrogen Receptor	Estrogen Receptor (ER)	CCS-005L	
Glucocorticoid Receptor	Glucocorticoid Receptor (GR)	CCS-006L	
Heat Shock Response	HSF	CCS-4023L	
Hypoxia	Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1)	CCS-007L	
Type I Interferon	STAT1/STAT2	CCS-008L	
Interferon Gamma	STAT1/STAT1	CCS-009L	
MAPK/ERK	Elk-1/SRF	CCS-010L	CCS-010G
MAPK/JNK	AP-1	CCS-011L	CCS-011G
MEF2	MEF2	CCS-7024L	

パスウェイ	転写因子	品番/包装/希望販売価格	
		デュアル ルシフェラーゼ ¥95,000/1キット	GFP ¥95,000/1キット
c-myc	Myc/Max	CCS-012L	
NFκB	NFκB	CCS-013L	CCS-013G
Notch	RBP-Jk	CCS-014L	
Oct4	Oct4	CCS-0025L	
PI3K/AKT	FOXO	CCS-1022L	
PKC/Ca ⁺⁺	NFAT	CCS-015L	
PPAR	PPAR	CCS-3026L	
Retinoic Acid Receptor	Retinoic Acid Receptor (RAR)	CCS-016L	
SP1	SP1	CCS-6027L	
STAT3	STAT3	CCS-9028L	
TGFβ	SMAD2/SMAD3/SMAD4	CCS-017L	CCS-017G
VDRE	Vitamin D Receptor	CCS-2029L	
Wnt	TCF/LEF	CCS-018L	CCS-018G

* : 500アッセイ (10,000~20,000 cells/assay) 分です (HEK293H細胞とSureFECT™ トランスフェクション試薬を用いて最適ナリバーストランスフェクションを行った場合)。

Cignal Finder™ 10パスウェイレポーターアレイ

培養細胞中の10種類のパスウェイシグナリング活性を

モニタリングするデュアルルシフェラーゼアッセイシステム

Cignal Finder™ 10パスウェイレポーターアレイは、一度に10種類パスウェイの活性を測定できます。目的の遺伝子とパスウェイとの相互作用解析に最適です。

特長

- 生体内作用にフォーカス
特定の生体内作用に関連した10種類のシグナルパスウェイの活性変動を一度に解析できます。
- 優れた性能
機能的に確認済みのデュアルレポーター設計が、各実験系の生物学的関連性、特異性、感度を高め、ばらつきを最小限に抑えます。
- フレキシブルかつ便利
目的のセルラインと直接リバーストランスフェクションし (または従来のトランスフェクション) をすることで迅速に作用データの重要なメカニズムを得ることができます。

構成内容

- ※ トランスフェクショングレード (Ready-to-use) です。
- 10種類のレポーターアッセイ (図7のA、B)
- ネガティブコントロール (図7のC、E)
- ポジティブコントロール (図7のD、E、B)
- (詳細は31ページの構成内容をご覧ください。)

※ 別途デュアルルシフェラーゼレポーターアッセイシステム (Promega社品番 : E1910) が必要です。

チューブタイプ (12tube strips) とプレートタイプをご利用いただけます。

図7. Cignal™ パスウェイレポーターアレイのプロトコール

Cignal Finder™ 10パスウェイレポーターアレイ

[メーカー : SPA]

適用	品名/パスウェイ	品番/包装/希望販売価格		
		チューブタイプ (2 X 12 tube strips) ¥210,000	プレートタイプ	
			(3アレイ) ¥95,000	(12アレイ) ¥294,000
癌	Cignal Finder™ Cancer 10-Pathway Reporter Array Wnt, Notch, p53/DNA Damage, TGFβ, Cell cycle, NFκB, Myc/Max, Hypoxia, MAPK/ERK, MAPK/JNK	CCA-001L	CCA-101L-3	CCA-101L-12
免疫学	Cignal Finder™ Immune Response 10-Pathway Reporter Array NFκB, PKC/Ca ⁺⁺ , IFN Type 1, IFN γ, MAPK/ERK, MAPK/JNK, TGFβ, cAMP/PKA, C/EBP, Glucocorticoid Receptor	CCA-002L	CCA-102L-3	CCA-102L-12
発生と細胞周期	Cignal Finder™ Development 10-Pathway Reporter Array Notch, Wnt, Myc/Max, NFκB, TGFβ, Cell Cycle/pRb-E2F, C/EBP, cAMP/PKA, MAPK/ERK, MAPK/JNK	CCA-003L	CCA-103L-3	CCA-103L-12
薬理学/毒物学	Cignal Finder™ Toxicity 10-Pathway Reporter Array p53/DNA Damage, Hypoxia, NFκB, Glucocorticoid Receptor, Cell Cycle/pRb-E2F, MAPK/ERK, MAPK/JNK, PKC/Ca ⁺⁺ , TGFβ, Myc/Max	CCA-004L	CCA-104L-3	CCA-104L-12

*各チューブには、それぞれ50μlのシグナルレポーターとコントロールアッセイ (10レポーター+ネガティブ&ポジティブコントロール) が含まれています。

Signal™ Lentiレポーターアッセイ

レンチウイルスのパワフルなデリバリー効果と
レポーターアッセイシステムとを組み合わせた
セルベースアッセイ

背景

すぐに導入可能 (Ready-to-transduce) なレンチウイルス粒子で、ほぼ全ての哺乳類細胞における細胞シグナリング活性の評価にお使いいただけます。このシステムは、レンチウイルスのパワフルなデリバリー能力と転写因子レポーターテクノロジーとを組み合わせた大変ユニークな商品です。パスウェイ活性を評価するドラッグディスカバリーや機能ゲノミクスにおいて非常にパワフルなツールです。薬剤候補、siRNAによる遺伝子ノックダウン、発現ベクターによる過剰発現やペプチドによってパスウェイが活性化または抑制化された場合に、ルシフェラーゼまたはGFPレポーター活性の変化を迅速かつ定量的に測定することができます。

特長

- すぐに導入可能 (Ready-to-transduce)
レンチウイルスベクターは、すぐに導入可能なレンチウイルス粒子としてお届けいたします。レンチウイルスを増幅したり、コンストラクションする手間が省けます。
- ほぼ全ての細胞タイプに導入可能
非分裂細胞、幹細胞、分化細胞、神経細胞、免疫細胞、プライマリー細胞などほぼ全ての哺乳類細胞にお使いいただけます。
- 幅広いアプリケーション
特定の細胞シグナリングパスウェイの安定化細胞株レポーターの構築にも、一過性の実験にもお使いいただけます。

プロトコール

Signal™ Lentiレポーターは、レンチウイルスを産生・増幅したりする手間がなく、すぐに導入できる状態でお届けします。これらのベクターは、パスウェイセンサーセルラインの樹立やトランスフェクションが難しいとされる細胞での一過性の導入研究にお使いいただけます。

図1. プロトコール
Transient Transduction Studies (図左) : 目的の細胞にCignal™ Lenti/バスウェイレポーターを導入する。レンチウイルスの融合を確実にするために24~48時間培養。その後、目的の試薬 (siRNA, shRNA, 化学物質、ウイルス発現ベクター、タンパク質、ペプチド) で処理し、処理後18~36時間にレポーターアッセイ (ルシフェラーゼまたはGFP) を行う。
Pathway Sensor Cell Line Generation (図右) : 目的の細胞にCignal™ Lenti/バスウェイレポーターを導入する。導入後、均質な細胞集団が得られるようピュアロマイシン選択条件下で培養。必要に応じて、クローン化バスウェイセンサーセルラインを単離するために、シングルセルのクローニングを行う。これらのバスウェイセンサーセルラインは、作用メカニズムやスクリーニングの研究といった有益なセルベースアッセイプラットフォームとして役立つ。

図2. Cignal™ Lenti SRE reporterを用いて、繊維芽細胞 (CV1 ; 正常アフリカモドリザル腎臓繊維芽細胞) のMAPK/ERKシグナリング活性を測定
Cignal™ Lenti SRE reporter (GFP) [5X10⁶ TU] またはCignal™ Lenti negative control (GFP) を約10,000 CV-1細胞 (正常アフリカモドリザル腎臓繊維芽細胞) に導入した (導入24時間前に96ウェルプレートに1ウェルあたり5,000細胞を播種)。導入42時間後、培地をアッセイ培地 (Opti-MEM + 0.5% FBS + 0.1mM NEAA + 1mM Sodium pyruvate + 100 U/ml penicillin + 100 µg/ml streptomycin) に交換。導入48時間後、細胞を10% FBSと10ng/ml PMAで処理した。処理24時間後、(A) 未処理細胞と (B) Cignal™ Lenti SRE reporter (GFP) 導入細胞の蛍光イメージを撮影した。その後、培地を除去し、蛍光活性をフルオロメーターで測定した。処理細胞および未処理のCignal™ Lenti SRE reporter (GFP) 導入細胞の蛍光活性から、処理細胞および未処理のCignal™ Lenti negative control (GFP) 導入細胞に存在する蛍光活性を引き算し、相対蛍光活性を任意の単位で示した。本実験はトリプリケートで行い、標準偏差を示す。

pCignal Lenti TREレポーター概要

特長	機能
RSV-5' LTR; Hybrid Rous sarcoma Virus (RSV) enhancer/promoter-U5 long terminal repeat	Permits viral packaging and reverse transcription of viral mRNA
Psi; Packaging signal	Allow viral packaging
RRE; Rev response element	Involved in packaging of viral transcript
cppt; Central polypurine tract	Involved in nuclear translocation and integration of transduced viral genome
Reporter gene (firefly luciferase or GFP)	Allow quantification of transcription
hPGK; human phosphoglycerate kinase eukaryotic promoter	Permits high-level expression of the mammalian selection marker (puromycin)
PuroR; puromycin resistance gene	Can be used for mammalian selection
SIN/3'LTR; 3' self inactivating long terminal repeat	Modified 3'LTR that allows viral packaging but self inactivates the 5'LTR for biosafety purpose. The element also contains a polyadenylation signal for efficient transcription termination
f1 ori; f1 origin of replication	Allows episomal replication of plasmid in eukaryotic cells
AmpR; ampicillin resistance gene	Allows selection of the plasmid in <i>E.coli</i>
TRE; Transcription response element	Permits regulation of reporter gene expression by a specific transcription factor
TATA box	Act as an minimal promoter

Signal™ Lentiレポーター

【メーカー：SPA】

パスウェイ	転写因子	品番/包装/希望販売価格			
		ルシフェラーゼ		mGFP	
		品番末尾-1： ¥95,000 (1tube*)	品番末尾-8： ¥210,000 (8tube*)	品番末尾-1： ¥95,000 (1tube*)	品番末尾-8： ¥210,000 (8tube*)
C/EBP	C/EBP	CLS-001L-1	CLS-001L-8	—	—
cAMP/PKA	CREB	CLS-002L-1	CLS-002L-8	CLS-002G-1	CLS-002G-8
Cell Cycle	E2F/DP1	CLS-003L-1	CLS-003L-8	—	—
p53/DNA Damage	p53	CLS-004L-1	CLS-004L-8	—	—
Hypoxia	Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1)	CLS-007L-1	CLS-007L-8	—	—
Type I Interferon	STAT1/STAT2	CLS-008L-1	CLS-008L-8	—	—
Interferon γ	STAT1/STAT1	CLS-009L-1	CLS-009L-8	—	—
MAPK/ERK	Elk-1/SRF	CLS-010L-1	CLS-010L-8	CLS-010G-1	CLS-010G-8
MAPK/JNK	AP-1	CLS-011L-1	CLS-011L-8	CLS-011G-1	CLS-011G-8
c-myc	Myc/Max	CLS-012L-1	CLS-012L-8	—	—
NF κ B	NF κ B	CLS-013L-1	CLS-013L-8	CLS-013G-1	CLS-013G-8
Notch	RBP-Jk	CLS-014L-1	CLS-014L-8	CLS-014G-1	CLS-014G-8
PKC/Ca ⁺⁺	NFAT	CLS-015L-1	CLS-015L-8	—	—
Retinoic Acid Receptor	Retinoic Acid Receptor (RAR)	CLS-016L-1	CLS-016L-8	—	—
TGF β	SMAD2/SMAD3/SMAD4	CLS-017L-1	CLS-017L-8	—	—
Wnt	TCF/LEF	CLS-018L-1	CLS-018L-8	CLS-018G-1	CLS-018G-8

*250 μ l/tube, 1 $\times$ 10⁷ TU(transducing units)/ml (2.5 $\times$ 10⁶TU/tube)。正確なTU/ml値は、ご購入時に添付されるCertificate of Analysisでご確認いただけます。

ご注意：カルタヘナ

本商品は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法則」(通称カルタヘナ法)の使用規制対象品です。ご使用に際しては、規制に則し適切にお取り扱いください。

Signal™ Lenti コントロール

【メーカー：SPA】

品名	内容	品番/包装/希望販売価格	
		品番末尾-1： ¥95,000 (1tube*)	品番末尾-8： ¥210,000 (8tube*)
Signal™ Lenti Positive Control (GFP)	導入条件を最適化し、導入効率を簡単に測定します。	CLS-PCG-1	CLS-PCG-8
Signal™ Lenti Negative Control (GFP)	バックグラウンドのGFP蛍光を測定し、処理効果の特異性を立証します。	CLS-NCG-1	CLS-NCG-8
Signal™ Lenti Negative Control (luc)	バックグラウンドのホタルルシフェラーゼ活性を測定し、処理効果の特異性を立証します。	CLS-NCL-1	CLS-NCL-8
Signal™ Lenti Renilla Control (luc)	デュアルルシフェラーゼアッセイフォーマットでの正規化用内部コントロールとして用います。	CLS-RCL-1	CLS-RCL-8
Signal™ Lenti Positive Control (luc)	導入効率を測定し、ホタルルシフェラーゼアッセイ用ポジティブコントロールとして用います。	CLS-PCL-1	CLS-PCL-8

*250 μ l/tube, 1 $\times$ 10⁷ TU(transducing units)/ml (2.5 $\times$ 10⁶TU/tube)。正確なTU/ml値は、ご購入時に添付されるCertificate of Analysisでご確認いただけます。

ご注意：カルタヘナ

本商品は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法則」(通称カルタヘナ法)の使用規制対象品です。ご使用に際しては、規制に則し適切にお取り扱いください。

Signal Finder™ Lenti 10パスウェイレポーターアレイ

培養細胞中の10種類のパスウェイシグナリング活性をモニタリングするルシフェラーゼアッセイシステム

構成内容

- 10種類のLentiレポーターアッセイ
- ネガティブコントロール
- ポジティブコントロール

【メーカー：SPA】

適用	品名/パスウェイ	品番	包装	希望販売価格
癌	Signal Finder™ Lenti Cancer 10-Pathway Reporter Array Wnt, Notch, p53/DNA Damage, TGF β , Cell cycle/pRb-E2F, NF κ B, Myc/Max, Hypoxia, MAPK/ERK, MAPK/JNK	CLA-001L	1tube each	¥336,000
免疫学	Signal Finder™ Lenti Immune Response 10-Pathway Reporter Array NF κ B, PKC/Ca ⁺⁺ , Type 1 Interferons, Interferon γ , MAPK/ERK, MAPK/JNK, TGF β , cAMP/PKA, C/EBP, Glucocorticoid Receptor	CLA-002L	1tube each	¥336,000
発生と細胞周期	Signal Finder™ Lenti Development 10-Pathway Reporter Array Notch, Wnt, Myc/Max, NF κ B, TGF β , Cell Cycle/pRb-E2F, C/EBP, cAMP/PKA, MAPK/ERK, MAPK/JNK	CLA-003L	1tube each	¥336,000
薬理学/毒物学	Signal Finder™ Lenti Toxicity 10-Pathway Reporter Array p53/DNA Damage, Hypoxia, NF κ B, Glucocorticoid Receptor, Cell Cycle/pRb-E2F, MAPK/ERK, MAPK/JNK, PKC/Ca ⁺⁺ , TGF β , Myc/Max	CLA-004L	1tube each	¥336,000

*250 μ l/tube, 1 $\times$ 10⁷ TU(transducing units)/ml。正確なTU/ml値は、ご購入時に添付されるCertificate of Analysisでご確認いただけます。

ご注意：カルタヘナ

本商品は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法則」(通称カルタヘナ法)の使用規制対象品です。ご使用に際しては、規制に則し適切にお取り扱いください。

形質導入試薬

高効率、低細胞毒性のリバーストランスフェクション試薬です。
遺伝子の機能解析研究に最適です。
1,400アッセイ(10,000~20,000 cells/assay)分です(HEK293H細胞にリバーストランスフェクションした場合)。

図B. 様々なセルラインにおける遺伝子ノックダウン効率 (品番：SA-01)

【メーカー：SPA】

品名(内容)	品番	包装	希望販売価格
SureFECT™ Transfection Reagent (レポーターアッセイ用)	SA-01	0.5ml	¥42,000
SureENTRY™ Transduction Reagent (レンチウイルスアッセイ用)	SA-02	0.5ml	¥42,000

WideScreen™ EpiTag™ ERK Pathway Assays

絶対定量が行える高精度な蛍光マイクロビーズアレイ

使用目的

WideScreen™シリーズは、リン酸化タンパク質の定量をマルチプレックスで行える画期的なLuminex®機器対応のイムノアッセイキットです。ビーズベースxMAP™プラットフォームで、従来とは異なり、タンパク質フラグメントおよびリン酸化タンパク質フラグメントを検出するEpiTag™テクノロジーを利用しています。このタンパク質フラグメントは部位特異的プロテアーゼで消化され、これらのフラグメント上に、抗体と結合するユニークなアミノ酸配列 (EpiTag™配列) を生成します。このアプローチにより、高い特異性が得られ、交差反応なしにタンパク質の総レベルおよびリン酸化レベルのマルチプレックスアッセイを行うことができます。アッセイでは、合成リン酸化ペプチドを使用して検量線を作成するため、リン酸化した標的タンパク質の濃度を正確に測定できます。

●キットのアッセイ項目

<Panel I Complete Kit>

- ・ B-Raf (pS446)
- ・ MEK1/2 (pS217, pS221/ pS222, pS226)
- ・ ERK1 Total
- ・ ERK1 (pT202/pY204)
- ・ ERK2 Total
- ・ ERK2 Total ERK2 (pT185/pY187)

<Panel II Complete Kit>

- ・ MEK1 Total
- ・ MEK2 Total
- ・ MEK1/2 (pS217, pS221/ pS222, pS226)
- ・ Raf1 Total
- ・ Raf1 (pS338)
- ・ STAT1 Total

特長

シグナル伝達・リン酸化経路のマルチプレックスアッセイ Luminex® 機器対応

WideScreen™ EpiTag™ ERK Pathway Assaysは、ヒトあるいはマウスのサンプルに含まれる、ERKパスウェイに関係する複数のリン酸化タンパク質および非リン酸化タンパク質を同時に絶対定量できる、画期的なキットです。Panel I, Panel II の2種のComplete Kitがあり、測定をしたいタンパク質検出用のBead Kitを選択することにより、オリジナルのマルチプレックス測定も可能です。

Epitome Biosystems™ EpiTag™ テクノロジー

先端的なバイオインフォマティクス技術で、複数のユニークな領域 (EpiTag™ Sequences) を選択し、これをタンパク質分解断片として使用します。サンドイッチ法によるイムノアッセイで検出、ターゲットの断片の合成ペプチドを定量検量用スタンダードとして使用します。従来キナーゼでリン酸化した、完全にリン酸化していないタンパク質を標品として使用する相対的な測定法と異なり、正確にリン酸化タンパク質の定量が行えます。

EpiTag™ xMAPアッセイの原理

従来のアッセイでは、特定のリン酸化タンパク質および非リン酸化タンパク質の量を絶対値で測定比較することはできませんでした。しかし、タンパク質をプロテアーゼ (Endopeptidase Lys-C) で消化し、リン酸化部位のフラグメントを定量アッセイし、合成リン酸化標品の検量線を用いることで、リン酸化を受けたタンパク質の絶対量を定量することができるようになりました。

絶対値の定量

ERK1 と、ERK2 は別々に測定されます。

構成内容

<WideScreen™ EpiTag™ ERK Pathway Panel I>

- ERK Pathway Capture Beads Premix I 100μl of bead concentrate in buffer containing 0.09% NaN₃. Use 1μl per test.
- ERK Pathway Detection Antibody Premix I 100μl of biotinylated Detection Antibody concentrate in buffer containing 0.09% NaN₃. Use 1μl per test.

<WideScreen™ EpiTag™ ERK Pathway Panel II>

- ERK Pathway Capture Beads Premix II 100μl of bead concentrate in buffer containing 0.09% NaN₃. Use 1μl per test.
- ERK Pathway Detection Antibody Premix II 100μl of biotinylated Detection Antibody concentrate in buffer containing 0.09% NaN₃. Use 1μl per test.

【メーカー：NVG】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
WideScreen™ EpiTag™ ERK Pathway Panel I Complete Kit	71782-3	96テスト	¥350,000	☑	☑
WideScreen™ EpiTag™ ERK Pathway Panel II Complete Kit	71891-3	96テスト	¥350,000	☑	☑

WideScreen™ RTK Assays

多項目が同時測定できる高精度なマイクロビーズアレイ

使用目的

●キットのアッセイ項目

<Total Assay Complete Kit>

- ・ Total EGFR
- ・ Total IGF-1R
- ・ Total HGFR
- ・ Total PDGFR β
- ・ Total HER-2
- ・ Total VEGFR2
- ・ Total Tie-2

<pTyr Assay Complete Kit>

- ・ pTyr EGFR
- ・ pTyr IGF-1R
- ・ pTyr HGFR
- ・ pTyr PDGFR β
- ・ pTyr HER-2
- ・ pTyr VEGFR2
- ・ pTyr Tie-2

<HUVECおよびHT-29細胞溶解物(10 μ g total protein)をWideScreen RTK Total Assay Kitで測定>

各タンパク質(EGFR, IGF-1R, HGFR, PDGFR β , HER-2, VEGFR2, Tie-2)の発現レベルを測定しました。

<阻害剤プロファイリング>

96ウェルプレートにHT-29 cellを飢餓状態で培養し、PD168393 (EGFR/HER-2 inhibitor; 製品番号 513033)の各濃度で添加後、1時間培養し、growth factorのカクテルで10分間刺激します。細胞溶解物のリン酸化RTKのレベルをWideScreen RTK pTyr Assay Complete Kitでテストします。

リン酸化タンパク質のレベルはポジティブコントロール(vehicle-treated HT-29 cell)を基準とした割合で示されます。データは μ M以下のレベルでは、PD168393は、EGFR/HER-2に特異的ですが、IGF-1RあるいはHGFRのリン酸化は阻害しないことが示されます。HT-29 cellは、VEGFR2, Tie-2,あるいはPDGFR β の発現をしませんのでデータに含まれておりません。

特長

シグナル伝達・リン酸化経路のマルチプレックスアッセイLuminex® 機器対応

WideScreen™ RTK Assaysは、ヒトのサンプルに含まれる、チロシンキナーゼレセプター関連タンパク質のリン酸化あるいは非リン酸化を検出できる画期的なキットです。

キットは、チロシンキナーゼレセプターに関連する複数のタンパク質測定キット(製品番号71942-3)と、リン酸化タンパク質測定キット(製品番号71943-3)の2種がございます。(各キットには、それぞれ々にサンプルを用意してください。)その他、測定をしたいタンパク質検出用のBead Kitを選択することにより、オリジナルのマルチプレックス測定も可能です。

図. 測定原理

構成内容

<Bead Kit>

- ・ Capture Beads
- ・ Detection Antibody
- ・ Standard (含まれないものもあります。)

<WideScreen™ RTK Total Assay Complete Kit>

- ・ Premixed bead kits
- ・ detection antibodies
- ・ recombinant standards
- ・ Cell Extraction kit (Extraction Reagent, Benzonase® Nuclease, Phosphatase Inhibitor Cocktail Set V, Protease Inhibitor Cocktail Set III)
- ・ WideScreen Reagent Kit (Streptavidin-PE Concentrate, 96-Well Filter Plate and Sealer, 5X Assay Diluent, 10X Wash Buffer)

<WideScreen™ RTK pTyr Assay Complete Kit>

- ・ Premixed bead kits and detection antibody
- ・ Cell Extraction kit (Extraction Reagent, Benzonase® Nuclease, Phosphatase Inhibitor Cocktail Set V, Protease Inhibitor Cocktail Set III)
- ・ WideScreen Reagent Kit (Streptavidin-PE Concentrate, 96-Well Filter Plate and Sealer, 5X Assay Diluent, 10X Wash Buffer)

【メーカー：NVG】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
HER-2 Total Bead Kit	71932-3	100テスト	¥57,200		⊕
Tie-2 Total Bead Kit	71934-3	100テスト	¥57,200		⊕
HER-2 pTyr Bead Kit	71939-3	100テスト	¥52,800		⊕
Tie-2 pTyr Bead Kit	71941-3	100テスト	¥52,800		⊕
EGFR Total Bead Kit	71928-3	100テスト	¥57,200		⊕
IGF-1R Total Bead Kit	71929-3	100テスト	¥57,200		⊕
HGFR Total Bead Kit	71930-3	100テスト	¥57,200		⊕
PDGFR β Total Bead Kit	71931-3	100テスト	¥57,200		⊕
VEGFR2 Total Bead Kit	71933-3	100テスト	¥57,200		⊕
EGFR pTyr Bead Kit	71935-3	100テスト	¥52,800		⊕
IGF-1R pTyr Bead Kit	71936-3	100テスト	¥52,800		⊕
HGFR pTyr Bead Kit	71937-3	100テスト	¥52,800		⊕
PDGFR β pTyr Bead Kit	71938-3	100テスト	¥52,800		⊕
VEGFR2 pTyr Bead Kit	71940-3	100テスト	¥52,800		⊕
WideScreen™ RTK Total Assay Complete Kit	71942-3	96テスト	¥360,000		⊕凍
WideScreen™ RTK pTyr Assay Complete Kit	71943-3	96テスト	¥340,000		⊕凍

その他関連キット

【メーカー：NVG】

品名/内容	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
RTK Total 7-Plex ●使用目的 pre-mixed RTK Total 7-Plex bead kitは、Luminex® xMAP® プラットフォーム用のヒトサンプルのリン酸化チロシンキナーゼレセプター (RTKs) の総レベルの検出に使用します。このキットは、プレミックス捕捉ビーズ 1バイアル、total EGFR, IGF-1R, HGFR, PDGFR β , HER-2, VEGFR2 およびTie-2検出用プレミックス検出抗体1バイアルからなります。 ●構成内容 ・ RTK Capture Beads Premix, 7-Plex ・ RTK Total Detection Antibody Premix, 7-Plex ・ RTK Total Standards Mix, 7-Plex	71924-3	100テスト	¥300,000		⊕
RTK pTyr 7-Plex ●使用目的 pre-mixed RTK pTyr 7-Plex bead kitは、Luminex® xMAP® プラットフォーム用のヒトサンプルのリン酸化チロシンキナーゼレセプター (RTKs) の定量に使用します。このキットは、プレミックス捕捉ビーズ 1バイアル、pTyr EGFR, pTyr IGF-1R, pTyr HGFR, pTyr PDGFR β , pTyr Her-2, pTyr VEGFR2 および pTyr Tie-2検出用プレミックス検出抗体1バイアルからなります。 ●構成内容 ・ RTK Capture Beads Premix, 7-Plex ・ pTyr Detection Antibody	71925-3	100テスト	¥280,000		⊕

遺伝子発現解析用M-PCR (マルチプレックスPCR) キットシリーズ

複数の遺伝子を一度に増幅できます！

背景

PCRテクノロジーの進歩は遺伝子分析や医学的手段をプロファイルさせるツールとなっています。核酸をベースとした理想的な分析ツールは、高感度で再現性があり、さらに定量結果を簡単に得られるものです。ゲノム配列データの発展は次第にラージスケールの遺伝学的分析を可能にし、臨床場においても利用されることになるでしょう。実際、DNAマイクロアレイのような膨大な遺伝子配列の分析に適用するツールも需要も高まっています。しかし、運用費や感度・再現性、データ分析の効果等に限界があります。そこで重要なことは、ほとんどの生物学的過程において決定的な役割を担う遺伝子は50個以下ということです。ターゲットとする遺伝子が20-30個の解析に、数百から数千遺伝子を解析するDNAチップテクノロジーが最適なアプローチとは言えません。しかしながら、従来のPCRで、同時に遺伝子1個ずつの発現を分析することがよいとも言えません。マルチプレックスPCR (MPCR) は、同時に数十個の遺伝子を分析できるため、ターゲット遺伝子の特徴づけや遺伝子発現のプロファイリングに有用です。

使用目的

MBI社の膨大な数のターゲット遺伝子を検出するための方法開発のストラテジーは、PCRの増幅能力と1本のチューブで行える膨大な数のターゲット遺伝子検出の能力を併せもつMPCRに基づいています。プライマー1ペアの代わりに、MPCRは複数ペアのプライマーで様々なDNAサイズを一度に増幅できます。つまり、1つのチューブで5~10個あるいはそれ以上のサイズが異なる短いDNAを増幅します。MBI社の特許技術 (US patent 5, 582, 989) は1個のスタンダードDNAに多数のペアプライマーがアニールし、一度に多様な配列を増幅させるというものです。従来のMPCRには、非特異的増幅を引き起こすミスプラ

ミングやプライマー二量体のような諸師の問題や、プライマーセットの違いで増幅効率の違いを引き起こす可能性、GC含量の違いや熱力学的構造の違いそしてハイブリダイゼーションカインेटクスなどの問題がありました。MBI社の特許技術では、MPCRアッセイにおけるこれらの多様な要因で起こる誤ったシグナルを全て排除することが可能です。

特長

- 多様なアプリケーション
遺伝子発現パスウェイのプロファイリングから感染源の同定まで
- サンプルの節約
貴重なサンプルはシングルチューブ分のみでOK！
- 高感度
- 高効率
複数遺伝子の増幅がたった1回のPCRでOK！
- 簡便な解析
各遺伝子は増幅長が異なるので、電気泳動で簡単に分離解析出来ます
- 生物学的汚染の排除

構成内容

- MPCR最適化バッファー (dNTP、Chemicals含有)
- ポジティブコントロール
- ddH₂O (Dnaseフリー)
- プライマーミクスチャー
- DNA分子量マーカー (100bpラダー)
- マニュアル

MultiGenes Expression Array

図1. 細胞調節経路のMPCR解析

[メーカー：MBI]

品名 内容	適用種	コントロール 遺伝子	品番	
			50回キット	100回キット
転写因子 IKB, NFATc, NFATx, NFkB, OCT-2	Human	GAPDH	MP-70168	MP-70167
テロメラーゼ c-myc, TER, TERT, TP-1, TRF-1, TRF-2	Human	18S	MP-70140	MP-70139
アポトーシス bcl-2, c-myc, caspase1, p53	Human	GAPDH	MP-70013	MP-70005
アポトーシス bax- α , bcl-2, bcl-XL, bcl-XS, caspase3	Human	GAPDH	MP-70014	MP-70006
アポトーシス caspase8, Trail, Fas, FasL	Human	GAPDH	MP-70015	MP-70007
アポトーシス caspase8, TRADD, FADD, Fas, FasL	Human	GAPDH	MP-70016	MP-70008
アポトーシス ApaF1, caspase3, caspase5, caspase8, caspase9	Human	GAPDH	MP-70017	MP-70009
アポトーシス caspase2, caspase4, caspase6, caspase7, caspase10	Human	GAPDH	MP-70018	MP-70010
アポトーシス BAD, baq-1, bax- α , bcl-2, BIM, c-myc, p53	Human	GAPDH	MP-70019	MP-70011
アポトーシス BAD, baq-1, bax- α , bcl-2, BIM, c-myc, p53	Human	18S	MP-70020	MP-70012
アポトーシス bcl-2, c-myc, caspase1, p53	Mouse	GAPDH	MP-70024	MP-70021
アポトーシス bax- α , bcl-2, bcl-XL, bcl-XS, caspase3	Mouse	GAPDH	MP-70025	MP-70022
アポトーシス ApaF1, caspase1, caspase2, caspase3, caspase8, caspase9	Mouse	18S	MP-70026	MP-70023
アポトーシス bcl-2, c-myc, caspase1, p53	Rat	GAPDH	MP-70030	MP-70027
アポトーシス bax- α , bcl-2, bcl-XL, bcl-XS, caspase3	Rat	GAPDH	MP-70031	MP-70028

●各キット、1キット(50回用) ¥ 63,000、(100回用) ¥ 114,000です。

*リン酸化ハンドブックに掲載されていないカテゴリのMPCRキットも多数そろえています。
お問い合わせください。

品名 内容	適用種	コントロール 遺伝子	品番	
			50回キット	100回キット
アポトーシス caspase1, caspase2, caspase3, caspase6, caspase8, caspase9	Rat	18S	MP-70032	MP-70029
シグナリング CD-14, TLR-1, TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-5	Human	GAPDH	MP-70138	MP-70137
シグナリング CD-14, TLR-1, TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-5, TLR-6, TLR-9	Human	GAPDH	MP-70190	MP-70189
シグナリング CD-14, H16S, TLR-1, TLR-2, TLR-4, TLR-5, TLR-6, TLR-9	Human	—	MP-70061	MP-70060
MMP MMP-1, MMP-3, MMP-7, MMP-13, Trypsinase	Human	GAPDH	MP-70109	MP-70106
MMP MMP-1, MT-MMP1, TIMP-1	Human	18S	MP-70186	MP-70185
MMP MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-9	Human	GAPDH	MP-70184	MP-70183
TNFシグナリング bcl-2, ICE, IKB, NFkB, TNF α	Human	GAPDH	MP-70160	MP-70159
TNFシグナリング Cox-1, Cox-2, NFkB1A, NFkB1B, NFkB1, NFkB2	Human	GAPDH	MP-70188	MP-70187
TNFシグナリング bcl-2, ICE, IKB, NFkB, TNF α	Mouse	GAPDH	MP-70162	MP-70161
TNFシグナリング bcl-2, c-myc, Cox-2, cyp-32, IKB, NFkB, TNF α	Mouse	GAPDH	MP-70164	MP-70163
TNFシグナリング bcl-2, ICE, IKB, NFkB, TNF α	Rat	GAPDH	MP-70166	MP-70165
腫瘍遺伝子p53 Exons 2-4, Exons 5-6, Exons 7-9, Exons 10-11	Human	—	MP-70124	MP-70123
腫瘍遺伝子Ras Ras, K-Ras exon 1, K-Ras exon 2, N-Ras exon 2	Human	—	MP-70126	MP-70125

CASE™ パスウェイ活性化 検出キットシリーズ

トータルと活性型の相対比を同時に検出！

使用目的

CASE™ (Cellular Activation of Signaling ELISA Kit) は、キナーゼのリン酸化を測定する細胞ベースのELISAキットです。シグナル伝達パスウェイ上流の重要な制御タンパク質のリン酸化を測定することにより、そのシグナル伝達パスウェイの活性化をモニタリングします。

本キットは抗体を用いた検出システムで、特定のタンパク質のトータルと活性型の相対量を、同一サンプルで決定することができます。シグナル伝達パスウェイには、タンパク質キナーゼの活性化が含まれるため、その上流の制御タンパク質のリン酸化レベルが増加することになります。本キットを用いることで、調べたいセルライン中で、そのパスウェイが活性化されているかどうかの検証や、様々な処理・siRNA等のインヒビター・アクチベーターの影響を調べることができます。

特長

- トータル及び活性型のタンパク質量の相対比を、同時に検出できます。
- 簡単・定量的かつPIを使用しないプロトコルで、時間も省けます。
- 大量の細胞及び試薬は必要ありません。⇒ 2.4×10^4 cells/well in 96ウェルプレート
- 操作中に活性状態のロスを起こしません。
- 細胞ベースのアッセイなので、抽出、ウェスタンブロット及び*in vitro*キナーゼアッセイ等は必要ありません。
- 浮遊細胞、接着細胞にも使用できます。
- 96ウェルプレートを用いているため、スケールアップしたスクリーニングにも対応します。

実験結果解析例

NFκBの相対的リン酸化タンパク質量

TNFαで処理したヒトA431細胞の、S536リン酸化NFκB p65タンパク質量(■)は、未処理のもの(□)と比較して、約2倍に増加している。一方、トータルのNFκB p65タンパク質量は、両者とも変化はない。また、TNFαとκBインヒビターで前処理した場合(■)は、NFκBのリン酸化が抑制されている。

実験系デザイン例

キナーゼ阻害剤LY294002あり、なしで、様々な濃度のIGF-Iでサンプルを処理する。ターゲットタンパク質のリン酸化特異的抗体、もしくはトータルタンパク質特異的抗体でインキュベーションした後、二次抗体を反応させる。比色定量により、リン酸化タンパク質とトータルタンパク質の相対比を求める。

構成内容

1キットは96ウェルプレート1枚分です。

抗体類

- Anti-Phospho-Protein Specific Antibody
- Anti-Pan-Protein Specific Antibody
- Secondary Antibody

試薬類

- 10×Antigen Retrieval Buffer
- 10×Washing Buffer
- Antibody Dilution Buffer
- Blocking Buffer, dry powder
- Cell Staining Solution
- Developing Solution
- Stop Solution

その他

タンパク質リン酸化の特異性を検証するために有効な阻害剤

SAバイオサイエンス社では、CASE™ キットで観察されたパスウェイ活性化の特異性を確認するために有効な、阻害剤も取り揃えています。これらの阻害剤は、目的タンパク質の上流にあるキナーゼを通して、そのリン酸化を直接阻害します。もし、阻害剤の非存在下でのみシグナルが検出できるのであれば、上流の制御タンパク質がそのパスウェイを特異的に活性化していることを示しています。

阻害剤は、濃縮溶液としてお届けしますので、希釈して簡単にお使いいただけます。

プロトコール

全ての操作は、1枚の96ウェル細胞培養プレート上で行います。

Active or Inactive?

目的タンパク質のリン酸化量とトータル量を比較するだけで、様々な実験処理がサンプルに及ぼす影響を確認できます！

CASE™ キット

【メーカー：SPA】

品名	リン酸化部位	種特異性	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵	阻害剤(品名)	特異性	品番
CASE™ for AKT	S473	human, mouse	FE-001	1キット	¥ 94,000		冷蔵	LY294002	PI3K	FA-002
CASE™ for ATF2	T69/T71	mouse	FE-020	1キット	¥ 94,000		冷蔵	—	—	—
CASE™ for BAD	S112	human, mouse	FE-021	1キット	¥ 94,000		冷蔵	—	—	—
CASE™ for BCR	Y177	mouse	FE-019	1キット	¥ 94,000		冷蔵	—	—	—
CASE™ for EGFR	Y845	human, mouse	FE-013	1キット	¥ 94,000		冷蔵	—	—	—
CASE™ for ErbB2	Y877	human, mouse	FE-012	1キット	¥ 94,000		冷蔵	—	—	—
CASE™ for ERK 1/2	T202/Y204	human, mouse	FE-002	1キット	¥ 94,000		冷蔵	U0126	MEK1, 2	FA-003
CASE™ for IκBa	S32	human	FE-008	1キット	¥ 94,000		冷蔵	Bay11-7085	IKBKA/B	FA-006
CASE™ for JNK	T183/Y185	human, mouse	FE-004	1キット	¥ 94,000		冷蔵	SP600125	JNK1, 2, 3	FA-005
CASE™ for JUN	S73	human, mouse	FE-009	1キット	¥ 94,000		冷蔵	SP600125	JNK1, 2, 3	FA-005
CASE™ for NFκB p65	S536	human	FE-005	1キット	¥ 94,000		冷蔵	Bay11-7085	IKBKA/B	FA-006
CASE™ for NFκB p65	S468	human	FE-006	1キット	¥ 94,000		冷蔵	Bay11-7085	IKBKA/B	FA-006
CASE™ for NFκB p65	S276	human	FE-007	1キット	¥ 94,000		冷蔵	Bay11-7085	IKBKA/B	FA-006
CASE™ for p38	T180/Y182	human, mouse	FE-003	1キット	¥ 94,000		冷蔵	SB202190	p38 MAPK	FA-004
CASE™ for p53	S9	human	FE-014	1キット	¥ 94,000		冷蔵	—	—	—
CASE™ for p53	S15	human	FE-015	1キット	¥ 94,000		冷蔵	—	—	—
CASE™ for p53	S37	human	FE-016	1キット	¥ 94,000		冷蔵	—	—	—
CASE™ for PIK3R1	YxxM	human, mouse	FE-010	1キット	¥ 94,000		冷蔵	—	—	—
CASE™ for SRC	Y418	human, mouse	FE-011	1キット	¥ 94,000		冷蔵	—	—	—
CASE™ for STAT3	Y705	human, mouse	FE-018	1キット	¥ 94,000		冷蔵	—	—	—
CASE™ for STAT3	S727	human, mouse	FE-017	1キット	¥ 94,000		冷蔵	—	—	—

※阻害剤は全て、¥ 34,000/1キット(1バイアル)です。

Screen-Well™ インヒビターライブラリー

使用目的

活性が定義されている既知のインヒビターが含まれています。本ライブラリーは、ケミカルゲノミクス、アッセイの開発または二次的なスクリーニングの基準設定に最適です。

特長

- リン酸化研究に重要なツールです。
- 80種類のキナーゼインヒビターで構成。
- Ready-to-screen。

BTK	Insulin receptor	PDGFR
CaM Kinase II	JAK	PKA
CDK	JNK	PKC
CK I & II	MAPK	RAF
EGFR	MEK	SAPK
GSK	MLCK	Scr-family
IKK	PI3-Kinase	VEGFR

■標的キナーゼの代表例

品名	各化合物容量	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Screen-Well™ Kinase Inhibitor Library	100µl	2832A	1プレート	ご照会		凍
	500µl	2832	1プレート	ご照会		凍

タンパク質

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Adenylate kinase	Chicken	BFG	PK-ADKI-1000	1000ユニット	¥ 77,000		
ALK1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	A09-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
ALK4	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	A07-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
AMPK	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2011	5µg	¥ 60,000		凍
AMPK $\alpha/\beta/\gamma$	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	P47-10H*	5µg	¥ 104,000		凍
ASK1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	M13-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
BLK	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	B02-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
BRK	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	P94-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
BTK	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	B10-10H*	5µg	¥ 41,000		凍
BTK3	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2014	5µg	¥ 60,000		凍
CLK2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	C58-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
CSK	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	C63-10U*	5µg	¥ 41,000		凍
DAPK1	Human (Recombinant)	BFG	PK-DAPK1-A010	10µg	¥ 77,000		
DAPK3	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	D03-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
Deoxycytidine kinase	(Recombinant, <i>E. coli</i>)	BFG	PK-DCK-050	50µg	¥ 80,000		凍
EIF2AK2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	P80-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
ELK1	Human (Recombinant, Full length, <i>E. coli</i> , GST-tag)	SCP	E64-30G	50µg	¥ 53,000		凍
FAK (PTK2)	(Recombinant)	BFG	PK-FAK-A010	10µg	¥ 77,000		凍
FRK	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	F14-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
GRK5	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2028	5µg	¥ 60,000		凍
GSK3 sub	Human (aa 636-661)	SCP	G50-58	1mg	¥ 20,000		凍
GSK3 α	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	G08-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
GSK3 β	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9, His-tag)	SCP	G09-10H*	5µg	¥ 41,000		凍
HCK	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	H02-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
HIPK1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	H03-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
IRAK2	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	I10-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
IRAK4	Human (Recombinant)	BFG	PK-IRAK4-A010	10µg	¥ 77,000		
ITK	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	I13-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
JAK3	Human (Recombinant)	BFG	PK-JAK3-A010	10µg	¥ 77,000		
LCK	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	L03-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
MINK1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	M53-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
MLCK	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	M62-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
MNK2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	M55-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
MRCK α	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	C27-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
MRCK β	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	C28-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
MUSK	Human (Recombinant)	BFG	PK-MUSK-A010	10µg	¥ 77,000		
NEK2	Human (Recombinant)	BFG	PK-NEK2-A010	10µg	¥ 77,000		
NEK6	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	N08-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
NEK7	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	N09-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
NFATC1	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	N12-30G*	50µg	¥ 53,000		凍
p70S6K	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, His-tag)	SCP	R21-10H*	5µg	¥ 41,000		凍
p70S6K1	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2053	5µg	¥ 60,000		凍
p70S6K2	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2054	5µg	¥ 60,000		凍
PAKtide		SCP	P08-58	1mg	¥ 20,000		凍
PI3 Kinase (p110 α /85 α)	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2056	5µg	¥ 60,000		凍
PI3K α	Human (Recombinant)	BFG	PK-PI3KA-010	10µg	¥ 90,000		
PKA sub	(aa 15-23)	SCP	C01-58	1mg	¥ 16,000		凍
PKA, C α		BFG	PKA-CA025	25µg	¥ 58,000		凍
PKA, C β	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	P52-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
PKA, C γ	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	P53-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
PKA, holo enzyme complex, type 1 α		BFG	PKA-CRIA020	20µg	¥ 90,000		凍
PKA, holo enzyme complex, type 2 α		BFG	PKA-CR2A020	20µg	¥ 90,000		凍
PKA, R2 α		BFG	PKA-RIIA025	25µg	¥ 90,000		凍
PKA, R2 β		BFG	PKA-RIIB025	25µg	¥ 90,000		凍
PLK1	(Recombinant)	BFG	PK-PLK1-A010	10µg	¥ 77,000		凍
PP1		BFG	PKI-PP1-001	1mg	¥ 48,000		
PP2		BFG	PKI-PP2-001	1mg	¥ 31,000		
PYK2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	P92-11H*	5µg	¥ 41,000		凍
RAC1	Human (Recombinant, Full length, <i>E. coli</i> , GST-tag)	SCP	R03-30G	50µg	¥ 53,000		凍
RAF (B-RAF)	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9)	BFG	PK-BRAF-A010*	10µg	¥ 77,000		凍
RAF1 (EE)	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	R01-13G*	5µg	¥ 41,000		凍
Rapamycin		BFG	PKI-RAPA-005	5mg	¥ 48,000		凍
RAS	Human (Recombinant, Full length, <i>E. coli</i> , GST-tag)	SCP	R05-30G	50µg	¥ 53,000		凍
RIPK2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	R08-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
S6K sub	Human (aa 260-238)	SCP	S05-58	1mg	¥ 16,000		凍
SGK1	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	S06-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
SGK2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	S07-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
SRPK1, Active	Human	SCP	S21-10G*	5µg	¥ 41,000		凍
SYK	Human (Recombinant)	HUZ	HZ-2064	5µg	¥ 60,000		凍

品番に*印の付いた商品は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(通称カルタヘナ法)の使用規制対象品です。ご使用に際しては、規制に則し適切にお取り扱いください。最新の情報につきましては、*印の有無に関わらずご注文の前にコスモ・バイオ(株)までお問い合わせください。

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
TAOK2	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	T25-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
Thymidine Kinase	Human (Recombinant, <i>E. coli</i>)	BFG	HTK1-A050	50µg	¥ 80,000		凍
TOPK	Human (Recombinant, Full length, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	T14-14G*	20µg	¥ 53,000		凍
TRKA	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	N16-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
TRKB	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	N17-11G*	5µg	¥ 41,000		凍
TXK	Human (Recombinant, Baculovirus in sf9, GST-tag)	SCP	T19-11G*	5µg	¥ 41,000		凍

品番に*印の付いた商品は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(通称カルタヘナ法)の使用規制対象品です。ご使用に際しては、規制に則し適切にお取り扱いください。最新の情報につきましては、*印の有無に関わらずご注文の前にコスモ・バイオ(株)までお問い合わせください。

インヒビター

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ADAMTS-5 Inhibitor	—	CBC	114810	5mg	¥ 39,200		凍
Adenosine Kinase Inhibitor	—	CBC	116890	5mg	¥ 51,500		冷
AIP, CaM kinase II inhibitory peptide	—	BMO	P211-0001	1mg	¥ 18,000		凍
ALLN, Calpain Inhibitor I	—	BMO	P120-0005	5mg	¥ 15,000		凍
AMPK Inhibitor, Compound C	—	CBC	171260	1mg	¥ 17,700		冷
ATM Kinase Inhibitor	—	CBC	118500	2mg	¥ 25,000		凍
ATM/ATR Kinase Inhibitor	—	CBC	118501	5mg	¥ 44,300		冷
Biligand Kinase Inhibitor	—	CBC	201110	500µg	¥ 46,800		凍
Ceramide Kinase Inhibitor, K1	—	CBC	219489	1mg	¥ 45,500		凍
cFMS Receptor Inhibitor 3	—	CBC	344038	1mg	¥ 19,600		冷
cFMS Receptor Inhibitor 4	—	CBC	344039	5mg	¥ 38,000		凍
cFMS Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor	—	CBC	344036	1mg	¥ 22,800		冷
c-Met Kinase Inhibitor II	—	CBC	448102	2mg	¥ 28,800		冷
DAG Kinase Inhibitor	Synthetic	SCB	SC-3551	5mg	¥ 21,000		凍
Diacylglycerol Kinase Inhibitor 1	Synthetic	CBC	266785	5mg	¥ 23,400		凍
Diacylglycerol Kinase Inhibitor 2	Synthetic	CBC	266788	5mg	¥ 23,400		凍
eEF-2 Kinase Inhibitor, NH125	—	CBC	324515	5mg	¥ 43,000		冷
FGF / VEGF Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor	—	CBC	341607	2mg	¥ 31,600		冷
FGF Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor	—	CBC	341608	5mg	¥ 43,700		冷
GSK-3 Inhibitor 9	Synthetic	CBC	361550	1mg	¥ 22,700		冷
GSK-3 Inhibitor 10	Synthetic	CBC	361551	1mg	¥ 22,700		冷
GSK-3 Inhibitor 13	—	CBC	361555	5mg	¥ 49,300		冷
GSK-3 Inhibitor 13	—	CBC	361555	1mg	¥ 16,500		冷
GSK-3 Inhibitor 15	—	CBC	361558	1mg	¥ 62,000		凍
GSK-3 Inhibitor 17	—	CBC	361560	5mg	¥ 18,400		冷
GSK-3β Inhibitor	Synthetic	CBC	361546	1mg	¥ 34,800		凍
GSK-3β Inhibitor 7	Synthetic	CBC	361548	5mg	¥ 22,200		凍
GSK-3β Inhibitor 6	—	CBC	361547	5mg	¥ 25,000		凍
GSK-3β Inhibitor 8	—	CBC	361557	5mg	¥ 20,700		冷
GSK-3β Inhibitor 12, TWS119	—	CBC	361554	1mg	¥ 22,000		冷
Hsp25 Kinase Inhibitor	Synthetic	CBC	385880	1mg	¥ 22,400		凍
IκB Kinase Inhibitor Peptide, Cell-Permeable	Synthetic	CBC	401477	1mg	¥ 48,100		凍
IP3K Inhibitor	—	CBC	406170	5mg	¥ 32,700		冷
JAK Inhibitor I in Solution	—	CBC	420097	500µg	¥ 22,000		冷
Kinase Inhibitor Set (AGC group)	—	BFG	PKI-AGC-250	5×50µl	¥ 112,000		
KP372-1 (multiple kinase inhibitor: PDK1, Akt, FIt3)	—	ECL	B-0102	5mg	¥ 59,500		冷凍
Met Kinase Inhibitor	—	CBC	448101	1mg	¥ 23,700		冷
MK2a Inhibitor	—	CBC	475863	5mg	¥ 43,200		冷
MNK1 Inhibitor	Synthetic	CBC	454861	5mg	¥ 43,500		冷
PDGF Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor	—	CBC	521233	1mg	¥ 37,600		凍
PDGF Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor 1	Synthetic	CBC	521230	1mg	¥ 37,200		凍
PDGF Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor 2	Synthetic	CBC	521231	1mg	¥ 40,300		冷
PDGF Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor 3	Synthetic	CBC	521232	1mg	¥ 27,800		冷
PDK1/Akt/Fit Dual Pathway Inhibitor	—	CBC	521275	5mg	¥ 56,900		冷
PIM1 Inhibitor III	—	CBC	526521	1mg	¥ 45,500		凍
PIM1 Kinase Inhibitor II	—	CBC	526520	5mg	¥ 22,700		冷
Protein Kinase A Inhibitor (5-24)	Synthetic	CBC	116805	500µg	¥ 32,600		凍
Protein Kinase G Inhibitor	Synthetic	CBC	370654	1mg	¥ 16,600		凍
Protein Kinase Inhibitor KT 5823	—	SER	26874	0.1mg	¥ 51,000		冷
Protein Kinase Inhibitor, DMAP	—	CBC	476493	50mg	¥ 12,500		冷
Ste11 MAPKKK Activation Inhibitor	—	CBC	570100	5mg	¥ 38,000		冷
Syk Inhibitor	Synthetic	CBC	574711	5mg	¥ 27,800		冷
Syk Inhibitor 2	—	CBC	574712	1mg	¥ 20,900		冷
Syk Inhibitor 3	—	CBC	574713	50mg	¥ 23,700		凍
Syk Inhibitor 4	—	CBC	574714	2mg	¥ 34,200		冷
Tpl2 Kinase Inhibitor	—	CBC	616373	1mg	¥ 34,800		凍
Tripeptidylpeptidase II Inhibitor	Synthetic	CBC	645905	5mg	¥ 18,100		凍
Tubulin Polymerization Inhibitor II	—	CBC	654164	5mg	¥ 22,700		冷
Tyrosine-Specific Protein Kinase Inhibitor	Synthetic	CBC	657015	500µg	¥ 54,200		凍

ホスファターゼの解析 Analysis of protein phosphatases

構造タンパク質と制御タンパク質のリン酸化、および脱リン酸化は、真核生物における主要な細胞内制御機構です。プロテインキナーゼは、ATPから特異的タンパク質のセリンやスレオニン、またはチロシン残基に対してリン酸基を転移させます。リン酸基の共有結合は、タンパク質の構造やリガンドに対する親和性を変化させます。ホスファターゼはタンパク質からリン酸基を引き離して、脱リン酸化状態に戻します。従って、リン酸化-脱リン酸化のサイクルは、分子のON-OFFスイッチであると考えられます。数多くのプロテインキナーゼが発見され、詳細に研究されているのに対して、同様の注目を集めるようなホスファターゼは多くありません。プロテインホスファターゼはセリン/スレオニン特異的、チロシン特異的、2重特異的ホスファターゼの3種類に分類されます。

生化学的特性や基質特異性、そして様々な阻害剤に対する感受性に基づいて、セリン/スレオニンプロテインホスファターゼは大きく2つのクラスに分類されます。PP1を含むタイプ I ホスファターゼは、熱安定性タンパクとして知られるインヒビター1 (I-1) とインヒビター2 (I-2) によって阻害されます。これは、ホスホリラーゼキナーゼのβサブユニットを優先的に脱リン酸化します。タイプ II ホスファターゼは、熱安定性インヒビターに非感受性であり、ホスホリラーゼキナーゼのαサブユニットを優先的に脱リン酸化します。タイプ II ホスファターゼは更に、自発活性 (PP2A)、Ca²⁺依存 (PP2B)、Mg²⁺依存 (PP2C) クラスに細分されます。PP1とPP2Aは配列全体で約43%の同一性を有していますが、PP2Cは構造的に区別され、全く異なる遺伝子ファミリーに属しています。PP1とPP2Aはホロ酵素であり、触媒サブユニット (PP1cとPP2Ac) は約50%の配列相同性を有しています。

プロテインホスファターゼ アッセイキット

品名	構成内容	使用目的	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
カルシニユリン細胞活性アッセイ キット Calcineurin Cellular Activity Assay Kit	<ul style="list-style-type: none"> Calcineurin enzyme (human recombinant) Calmodulin (Bovine brain) Substrate (IRII) 2× Assay Buffer 2× EGTA Buffer Lysis Buffer Protease Inhibitors Cocktail BIOMOL GREEN™ reagent Phosphate Standard OKADAIC acid Desalting Column and Resin 1/2 volume microtiter-plate 	本キットは比色により細胞内カルシニユリン(PP2B) 脱リン酸化活性を測定するキットです。	BMO	AK8160001	1キット	¥ 62,000		凍
カルシニユリン細胞活性測定 キット Calcineurin Cellular Activity Assay Kit, colorimetric	<ul style="list-style-type: none"> Calcineurin, Human, Recombinant Calmodulin, Bovine Brain R II Phosphopeptide 2X Assay Buffer 2X EGTA Buffer Lysis Buffer Protease Inhibitor Cocktail GREEN™ Reagent Phosphate Standard Okadaic-Acidcarcinogenic/teratogenic Desalting Column Resin Chromatography Column 1/2 Volume Microtiter Plate 	組織や細胞抽出物中におけるカルシニユリン活性を測定するための比色アッセイキットで便利な96ウェルマイクロプレートフォーマットです。	CBC	207007	1キット	¥ 84,200		凍
カルシニユリン活性測定キット Calcineurin Assay Kit	<ul style="list-style-type: none"> Calcineurin, Human Recombinant Calmodulin, Bovine Brain Substrate (R II Phosphopeptide) 2× Assay Buffer Malachite Green Reagent Phosphate Standard Half Volume Microtiter Plate 	カルシニユリン活性を測定するための比色アッセイキットで、便利な96ウェルマイクロプレートフォーマットです。	CBC	207005	1キット	¥ 89,900		凍
カルシニユリンホスファターゼ アッセイキット Calcineurin phosphatase assay kit	<ul style="list-style-type: none"> Calcineurin enzyme (human recombinant) Calmodulin (Bovine brain) Substrate (IRII) 2× Assay Buffer BIOMOL GREEN™ reagent Phosphate Standard 1/2 volume microtiter-plate 	カルシニユリンのインヒビタースクリーニングやキネティックアッセイ用の比色アッセイキットです。	BMO	AK8040001	1キット	¥ 62,000		凍
プロテインチロシンホスファターゼ 1Bアッセイキット(比色) Protein Tyrosine Phosphatase 1B Assay Kit, Colorimetric	<ul style="list-style-type: none"> PTP1B Enzyme PTP1B Substrate (EGFR residues 988-998) 2× Assay Buffer Red Reagent Phosphate Standard Suramin Inhibitor 1/2 Volume Microtiter Plate 	PTP1Bホスファターゼ活性を測定するための比色定量キットです。96ウェルプレート用アッセイですので、PTP1B活性のモジュレーターやインヒビターのスクリーニングに有用です。	CBC	539736	1キット	¥ 89,900		凍
PTB1 活性測定キット PTP1B BIOMOL GREEN™ Drug Discovery Kit	<ul style="list-style-type: none"> PTP1B Enzyme Substrate 2× Assay Buffer 10mg/ml BSA BIOMOL GREEN™ reagent Phosphate Standard RK-682 Inhibitor (MW=368.5) 1/2 volume microplate 	本キットはPTP1Bの脱リン酸化活性の測定、インヒビター及びモジュレーターを比色によりスクリーニングするキットです。	BMO	AK822-0001	1キット	¥ 62,000		凍
LARチロシンホスファターゼ アッセイキット(創薬用) LAR Tyrosine Phosphatase assay kit for drug discovery	<ul style="list-style-type: none"> LAR Enzyme (human recombinant) Substrate (IR5) 2× Assay Buffer 10mg/ml BSA BIOMOL GREEN™ reagent Phosphate Standard RWJ-60475 Inhibitor 1/2 volume microplate 	LARチロシンホスファターゼ活性を測定する非放射活性の比色分析キットです。LARホスファターゼ活性の阻害剤およびモジュレータのスクリーニングに有用な96ウェルのマイクロタイタープレートフォーマットです。	BMO	AK8150001	1キット	¥ 62,000		凍
Biomol Green™ CD45チロシン ホスファターゼアッセイキット Biomol Green™ CD45 tyrosine phosphatase assay kit	<ul style="list-style-type: none"> CD45 enzyme (human recombinant) Substrate (pp60^{c-src}) 2× Assay Buffer BIOMOL GREEN™ reagent Phosphate Standard RWJ-60475 Inhibitor 1/2 volume microtiter-plate 	CD45チロシンホスファターゼ活性を測定する非放射活性の比色分析キットです。CD45ホスファターゼ活性の阻害剤およびモジュレータのスクリーニングに有用な96ウェルのマイクロタイタープレートフォーマットです。	BMO	AK8120001	1キット	¥ 62,000		凍

Aurora™ AP 化学発光レポーター遺伝子アッセイキット

分泌型胎盤アルカリホスファターゼを測定します。

背景

本製品は、高感度でワイドダイナミックレンジのStarLight™ 化学発光基質および発光エンハンサーを組み合わせることで細胞培養液中の分泌型胎盤アルカリホスファターゼを迅速に測定することができます。

使用目的

分泌型胎盤アルカリホスファターゼの化学発光レポーターアッセイは内因性アルカリホスファターゼ活性をもつ細胞で行います。内因性酵素活性はトランスフ

エクトした胎盤アルカリホスファターゼを阻害しない特異的阻害剤や熱による不活化法を組み合わせることで減らすことができます。アッセイのバックグラウンドとして非トランスフェクト細胞液で内因性酵素のレベルを測定しておくことが重要です。よく知られているHeLa細胞や他の子宮頸部癌由来細胞ではバックグラウンドが高いため、レポーターアッセイではこれら細胞株の使用をお奨めしていません。

構成内容

- Starlight™ 化学発光基質
- Aurora™ AP 特異的アルカリホスファターゼインヒビターミクスチャー入りアッセイバッファー
- Aurora™ AP 発光エンハンサー入り反応バッファー
- 5X 希釈バッファー
- コントロール酵素

【メーカー：ICN】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
オーロラ™ AP化学発光レポーター ジーン アッセイ キット	3131000	200テスト	¥ 140,200		☉
Aurora™ AP chemiluminescent Reporter Gene Assay Kit (for Secreted Alkaline phosphatase)	3132000	600テスト	¥ 203,200		☉

アルカリホスファターゼアッセイキット

分泌型胎盤アルカリホスファターゼを測定します。

背景

アルカリホスファターゼ (ALP) はアルカリ条件下でリン酸エステルの加水分解し有機ラジカルと無機ラジカルを生成します。哺乳類では肝臓や骨に多く見られます。血清ALPレベルの上昇が著しい場合は、悪性胆管閉塞、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆肝炎、肝臓のリンパ腫、サルコイドーシスといったハイパーアルカリホスファターゼミアとして知られる病気が疑われます。

使用目的

本製品は、前処理なしで生体サンプル中から直接ALP活性を測定することができます。ALPによって加水分解されると黄色(最大吸収波長405nm)の産物になるp-nitrophenyl phosphateを利用しています。

構成内容

- アッセイバッファー (50ml, pH 10.5)
- pNPP Liquid (600µl, 1M)
- 酢酸マグネシウム (1.5ml, 0.2M)
- キャリブレーター (10ml, Tartrazine)

【メーカー：BCH】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Alkaline Phosphatase Assay Kit	Z5030033	250アッセイ	¥ 72,400		☉

図1 96ウェルプレートアッセイにおけるALP反応の反応速度
96ウェルプレート用プロトコルを使って重複実験 (n=2) をした。ヒト血清におけるALP活性 (IU/L) は 13.4±0.4、ラット血清では 190.4±1.6、ヤキ血清では 202.8±4.3。

LEUCOGNOSTR SP 白血球 酸性ホスファターゼ活性の検出

白血球酸性ホスファターゼ活性の検出

背景

酸性ホスファターゼは酸性条件下でリン酸エステルの加水分解を触媒し、殆どの造血細胞（好中球や好酸球を除く）で特異的活性がみられます。また、T-リンパ芽細胞や形質細胞腫細胞でも顕著に見られます。

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ロイコグノスト SP 白血球酸性ホスファターゼ活性の検出 LEUCOGNOSTR SP Detection of the acid phosphatase reaction in leukocytes	1.16304.0002	12ユニット	ご照会		Ⓢ

【メーカー：MEK】

プロテインホスファターゼ アッセイ SensoLyte™

比色測定の高感度！

背景

AnaSpec社のFDPおよびMFPに基づく蛍光アッセイ「SensoLyte™ ホスファターゼアッセイキット」シリーズは、比色測定に比べ、100倍以上の高感度とより広いダイナミック・レンジを有します。この蛍光シグナルは、一般的な緑色蛍光フィルター（Excitation/Emission=490±20nm/520±20nm）を用いて容易に検出でき、ホスファターゼ活性またはホスファターゼインヒビターのハイスクリーンングや多量のELISA測定に適した便利な構成とフォーマットになっています。

品名	構成内容	使用目的	測定波長 (nm)	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
SensoLyte™ MFP Protein Phosphatase Assay Kit *Fluorimetric*	<ul style="list-style-type: none"> MFP phosphatase substrate Protein phosphatase inhibitor Assay buffer A "mix and read" assay protocol 	本キットは蛍光脱リン酸化酵素基質としてMFPを使い、生体サンプル中のタンパク質脱リン酸化酵素活性及びタンパク質脱リン酸化酵素アゴニスト及び阻害物質をスクリーニングすることができます。	Ex470±20/Em 510±20	71104	1キット	¥ 39,000		Ⓢ
SensoLyte™ pNPP Protein Phosphatase Assay Kit *Colorimetric*	<ul style="list-style-type: none"> pNPP chromogenic substrate Protein phosphatase inhibitor Assay buffer A "mix and read" assay protocol 	本キットは脱リン酸化酵素基質としてpNPPを使い、生体サンプル中のタンパク質脱リン酸化酵素活性及びタンパク質脱リン酸化酵素アゴニスト及び阻害物質をスクリーニングすることができます。	Abs 405	71105	1キット	¥ 35,000		Ⓢ
SensoLyte™ FDP Secreted Alkaline Phosphatase Reporter Gene Assay Kit *Fluorimetric*	<ul style="list-style-type: none"> FDP (fluorogenic placental alkaline phosphatase substrate) 2X Assay buffer Stop solution 10X Lysis buffer Triton X-100 DMSO 	本キットは蛍光脱リン酸化酵素基質として3,6-fluorescein diphosphate (FDP) を使った胎盤由来のアルカリホスファターゼ(分泌型/非分泌型)活性を測定するキットです。	Ex485±20/Em 528±20	71108	1キット	¥ 39,000		Ⓢ
SensoLyte™ FDP Alkaline Phosphatase Assay Kit *Fluorimetric*	<ul style="list-style-type: none"> FDP (fluorogenic alkaline phosphatase substrate) 2X Assay buffer Stop solution 10X Lysis buffer Triton X-100 DMSO Alkaline Phosphatase Standard Calf Intestine 	本キットは蛍光脱リン酸化酵素基質としてFDPを利用して生体サンプル中及びアルカリホスファターゼ結合二次抗体を使ったELISAのアルカリホスファターゼ活性を測定するキットです。	Ex485±20/Em 528±20	71109	1キット	¥ 39,000		Ⓢ
SensoLyte™ MFP Acid Phosphatase Assay Kit *Fluorimetric*	<ul style="list-style-type: none"> MFP Assay buffer 	本キットは蛍光物質脱リン酸化酵素基質としてMFPを使い、生体サンプル中の脱リン酸化酵素活性を測定するキットです。	Ex470±20/Em 510±20	71231	1キット	¥ 39,000		Ⓢ
SensoLyte™ pNPP Secreted Alkaline Phosphatase Reporter Gene Assay Kit *Colorimetric*	<ul style="list-style-type: none"> pNPP (placental alkaline phosphatase substrate) 2X Assay buffer Stop solution 10X Lysis buffer Triton X-100 	本キットは脱リン酸化酵素基質としてpNPPを使った胎盤由来のアルカリホスファターゼ(分泌型/膜結合型)活性を測定するキットです。	Abs 405	71233	1キット	¥ 19,000		Ⓢ

【メーカー：ASI】

使用目的

本製品は、ナフトールAS-BIが酸性ホスファターゼによりナフトールAS-OLからリリースされ、赤茶色(アゾ色素)のジアゾニウム塩が生じることを利用し、白血球酸性ホスファターゼ活性を測定します。

構成内容

- ナフトールAS-OLリン酸
- 酢酸ナトリウム
- Pararosaniline-HCl溶液
- 硝酸溶液 4%
- 酒石酸ナトリウム

特長

- 便利なフォーマット
全てのアッセイ試薬を含む完全キットです。
- アッセイの最適化
ホスファターゼ活性を検出するために最適化されています。
- 経済的
各構成内容の合計額よりもお得です。
- 迅速
最小限の操作時間です。
- 高い信頼性
詳細なプロトコールとリファレンスを含みます。

プロテインホスファターゼ アッセイ Amplite™

背景

酵素をベースに各ホスファターゼを検出するキットシリーズです。

【メーカー：ABD】

品名	構成内容	使用目的	測定波長 (nm)	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Amplite™ Colorimetric Alkaline Phosphatase Assay Kit *Yellow Color*	<ul style="list-style-type: none"> Component A: pNPP (light sensitive) Component B: Assay buffer Component C: Alkaline phosphatase standard Component D: Lysis buffer 	本キットは黄色の色素分子pNPP が付いた脱リン酸化酵素基質を使い、細胞抽出液、生体サンプル中のアルカリホスファターゼ活性を測定します。	Ex 399	11950	1キット	¥ 18,000		凍
Amplite™ Fluorimetric Alkaline Phosphatase Assay Kit *Blue Fluorescence*	<ul style="list-style-type: none"> Component A: MUP Plus™ substrate (light sensitive) Component B: Assay buffer Component C: Alkaline phosphatase standard Component D: DMSO 	本キットは青色蛍光分子が付いた脱リン酸化酵素基質を使い、細胞抽出液、生体サンプル中のアルカリホスファターゼ活性を測定します。	Ex 360/Em 449	11952	1キット	¥ 37,000		凍
Amplite™ Fluorimetric Alkaline Phosphatase Assay Kit *Green Fluorescence*	<ul style="list-style-type: none"> Component A: Phospholite™ Green (light sensitive) Component B: Assay buffer Component C: Alkaline phosphatase standard Component D: DMSO Component E: Stop solution 	本キットはPhospholite™ Green蛍光分子が付いた脱リン酸化酵素基質を使い、細胞抽出液、生体サンプル中のアルカリホスファターゼ活性を測定します。	Ex 490/Em 514	11953	1キット	¥ 37,000		凍
Amplite™ Fluorimetric Alkaline Phosphatase Assay Kit *Red Fluorescence*	<ul style="list-style-type: none"> Component A: Phospholite™ Red (light sensitive) Component B: Assay buffer Component C: Alkaline phosphatase standard Component D: DMSO 	本キットはPhospholite™ Red蛍光分子が付いた脱リン酸化酵素基質を使い、細胞抽出液、生体サンプル中のアルカリホスファターゼ活性を測定します。	Ex 571/Em 585	11954	1キット	¥ 37,000		凍
Amplite™ Luminometric Alkaline Phosphatase Assay Kit *Luminescence*	<ul style="list-style-type: none"> Component A: Phospholite™ Sensor (light sensitive) Component B: Reaction buffer Component C: Alkaline phosphatase standard Component D: Assay buffer 	本キットはルミノール発光分子が付いた脱リン酸化酵素基質を使い、細胞抽出液、生体サンプル中のアルカリホスファターゼ活性を測定します。	Em 560	11956	1キット	¥ 37,000		凍
Amplite™ Fluorimetric beta-Galactosidase Assay Kit *Green Fluorescence*	<ul style="list-style-type: none"> Component A: Fluorescein di-beta-D-galactopyranoside (FDG) Component B: Reaction buffer Component C: Stop buffer Component D: 5X lysis buffer Component E: DMSO Component F: β-mercaptoethanol 	本キットは LacZ+細胞とLacZ-細胞を識別するために蛍光分子がついたgalactosidase基質を利用しています。ELISA でgalactosidase結合の検出あるいは細胞内のLacZ発現をモニタリングすることに使用できます。	Ex 490/Em 514	12601	1キット	¥ 57,000		凍

プロテインホスファターゼ アッセイ PhosphoWorks™

背景

ATP、ADP、phosphate、pyrophosphate の検出ツールがセットになっています。

【メーカー：ABD】

品名	構成内容	使用目的	測定波長 (nm)	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PhosphoWorks™ Fluorimetric Pyrophosphate Assay Kit *Green Fluorescence*	<ul style="list-style-type: none"> Component A: Assay buffer Component B: PPI sensor Component C: Pyrophosphate standard Component D: DMSO 	pyrophosphateの濃度に依存して蛍光強度が増す緑色蛍光標識pyrophosphateセンサーを使用しています。	Ex 492/Em 514	21612	1キット	¥ 37,000		凍
PhosphoWorks™ Fluorimetric Phosphate Assay Kit *Blue Fluorescence*	<ul style="list-style-type: none"> Component A: Assay buffer Component B: Phosphate sensor Component C: 1mM KH₂PO₄ 	青色蛍光分子がついたリン酸センサーを使用し、リン酸によって生じるあらゆる酵素の活性を測定します。	Ex 370/Em 420	21658	1キット	¥ 37,000		凍
PhosphoWorks™ Luminometric ATP Assay Kit *Bright Glow*	<ul style="list-style-type: none"> Component A: ATP monitoring enzyme Component B: ATP Sensor (Light-sensitive) Component C: Reaction buffer 	感度の高さが要求されるさまざまな生体サンプル中のATPを測定します。10細胞/ウェル中のATPも測定できます。	Em 560	21610	1キット	¥ 14,000		凍
PhosphoWorks™ Luminometric ATP Assay Kit *Steady Glow*	<ul style="list-style-type: none"> Component A: ATP monitoring enzyme Component B: ATP Sensor (Light-sensitive) Component C: Reaction buffer 	発光の安定性(4hまで)が要求されるさまざまな生体サンプル中のATPを測定します。	Em 560	21609	1キット	¥ 14,000		凍
PhosphoWorks™ Fluorimetric Pyrophosphate Assay Kit	<ul style="list-style-type: none"> Component A: Assay buffer Component B: PPI sensor Component C: Pyrophosphate standard Component D: DMSO 	本キットはpyrophosphateの濃度に依存して蛍光強度が増す蛍光標識pyrophosphateセンサーを使用しています。	Ex 370/Em 420	21611	1キット	¥ 18,000		凍

品名	構成内容	使用目的	測定波長 (nm)	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PhosphoWorks™ Fluorimetric ADP Assay Kit *Red Fluorescence*	・ Component A: ADP Sensor Buffer ・ Component B: ADP Sensor (Light-sensitive) ・ Component C: ADP Standard ・ Component D: ADP Assay Buffer	多くのキナーゼアッセイキットがリン酸化ペプチドの形成もしくはATP欠失をモニタリングに焦点をあてていますが、本キットはADP形成をモニタリングすることでそれに比例するリン酸化転移酵素活性を蛍光測定します。	Ex 571/Em 585	21655	1キット	¥ 37,000		凍
PhosphoWorks™ Fluorimetric Phosphate Assay Kit *Red Fluorescence*	・ Component A: Assay buffer ・ Component B: Phosphate Sensor ・ Component C: 1mM KH ₂ PO ₄	本キットは、赤色蛍光分子がついたリン酸センサーを使用し、リン酸によって生じるあらゆる酵素の活性を測定します。	Ex 571/Em 585	21660	1キット	¥ 37,000		凍
PhosphoWorks™ Colorimetric Phosphate Assay Kit *Blue Color*	・ Component A: 1mM KH ₂ PO ₄ ・ Component B: MG Plus™ Reagent	本キットは、Malachite Green形成を利用して、リン酸によって生じるあらゆる酵素の活性を測定します。	Ex 650	21665	1キット	¥ 37,000		凍

PhosFree™ ホスファターゼキット

構成内容

- Activator
- Quencher
- 1mM Phosphate Standard in dH₂O
- PhosFree™ Phosphate Assay Manual

使用目的

2~3ステップで反応溶液中20 μ lのホスファターゼを1.0nmoleレベルまで測定するキットです。マラカイトグリーン複合体にリン酸塩イオンが結合すると650nmの吸光度を示すことを利用しています。様々な溶液のリン酸塩濃度や、ATPやGTPによる加水分解反応、ホスファターゼによるリン酸塩放出触媒反応などを測定します。

【メーカー：CYT】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PhosFree™ ホスファターゼキット PhosFree™ Phosphatase Kit	BK050	1000アッセイ	¥ 38,000		凍

関連商品

【メーカー：CYT】

品名	構成内容	使用目的	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
CytoPhos™ Phosphate Assay (1-500 μ g/ml protein reactions)	・ CytoPhos™ reagent ・ Phosphate standard Manual with detailed protocols and extensive	生体溶液やバッファー中のリン酸、酵素反応におけるATPもしくはGTP加水分解の測定、ホスファターゼ反応中のリリースしたリン酸の測定が可能です。	BK054	1キット	¥ 38,000		凍

DuoSet® IC Phosphatase Activity Assayシリーズ

使用目的

基質ホスファターゼアッセイに代わる高感度で非常に精選されたキットです。無機リン酸塩を検出するために捕捉抗体、リン酸化ペプチド基質およびマラカイトグリーンを含んでいます。ターゲットのホスファターゼは捕捉抗体と結合します。結合したホスファターゼは、リン酸化ペプチド基質からリン酸塩を分離し、自由になったリン酸塩はマラカイトの変色によって測定されます。

【メーカー：RSD】

品名	適用種	2プレート用品番	5プレート用品番	15プレート用品番	毒劇	貯蔵
		¥ 76,000	¥ 155,000	¥ 318,000		
Active CD45	HU	DYC1430-2	DYC1430-5	DYC1430E		凍
Active DEP-1/CD148	HU	DYC1934-2	DYC1934-5	DYC1934E		凍
Active PTP1B	HU	DYC1625-2	DYC1625-5	DYC1625E		凍
Active TC-PTP	HU/MS/RT	DYC2468-2	DYC2468-5	DYC2468E		凍
Human Total PTP1B	HU	DYC1366-2	DYC1366-5	DYC1366E		凍
Active SHP-2Pk	HU/MS/RT	DYC2809-2	DYC2809-5	DYC2809E		凍
Total PTEN	HU/MS/RT	DYC847-2	DYC847-5	DYC847E		凍
Total SHP-2	HU/MS/RT	DYC1894-2	DYC1894-5	DYC1894E		凍
Total TC-PTP	HU/MS/RT	DYC1930-2	DYC1930-5	DYC1930E		凍
Active CD45	MS	DYC114-2	DYC114-5	DYC114E		凍

プロテインホスファターゼ インヒビターキット

品名	構成内容	使用目的	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
プロテインホスファターゼ インヒビターエコノキット Protein Phosphatase Inhibitors EconoKit	<ul style="list-style-type: none"> 1-Nor-Ikadaone Fenvalerate Bioallethrin Okadaic Acid Calyculin A Okadaol Cantharidic Acid Permethrin Canthardin Phenylarsine Cypermethrin Pyrophosphate (sodium salt) Deltamethrin Sodium fluoride Endothall Vanadate Thioanhydride orthovanadate 	インヒビター18種類のセットです。	ALO	EK-200	1キット	¥ 112,000	毒劇	凍
ホスファターゼインヒビター カクテルセット2 Phosphatase Inhibitor Cocktail Set 2	酸性およびアルカリ性ホスファターゼおよびプロテインチロシンホスファターゼ (PTP) を阻害する5種類の阻害物質の混合溶液。 1バイアルの組成： <ul style="list-style-type: none"> 200mM イミダゾール 100mM フッ化ナトリウム 115mM モリブデン酸ナトリウム 100mM オルトバナジウム酸 400mM 酒石酸ナトリウム二水和物 	プロテインチロシンホスファターゼと同様にアルカリホスファターゼの抑制に用いる5種類のインヒビターのセットです。	CBC	524625	1セット	¥ 53,600		凍
プロテインホスファターゼ インヒビターセットII Protein Phosphatase Inhibitor Set II	<ul style="list-style-type: none"> 10mg Cypermethrin (#239900) 1mg Dephostatin (#263200) 10µg Okadaic Acid (#495604) 1µg NIPP-1, Bovine Thymus (#482250) 	各種プロテインホスファターゼインヒビターのセットです。	CBC	539630	1セット	¥ 79,800	毒劇	凍
Phosphatase Inhibitor Library	Calcineurin (PP2B)、JSP-1、PRL-1、CD45、PP1、PRL-3、CDC25、PP2A、PTENなどのホスファターゼに対するインヒビターが揃っています。	33種類のインヒビターが入ったセットです。各インヒビターは10mM DMSOに溶解し、96ウェルプレートに100µlもしくは500µlずつ分注してご提供します。Chemical genomics、アッセイの確立、二次スクリーニングのリファレンスセットとしてご利用いただけます。	BMO	2834A 2834	1プレート (100µl/ウェル) 1プレート (500µl/ウェル)	ご参照		凍

プロテインホスファターゼ 及びインヒビター

ホスファターゼ

品名	由来	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
AGlu416	HU Recombinant	GBZ	GLO139-001	1µg	¥ 90,000	毒劇	凍
Cdc25A	HU Recombinant	JNA	PR-348	20µg	¥ 38,000		凍
DEP-1	HU Recombinant, <i>E.coli</i>	RSD	1934-DP-010	10µg	¥ 60,000	毒劇	凍
I1 GST	HU Recombinant	GBZ	GLO137-001	1µg	¥ 83,000	毒劇	凍
MKP 3, Recombinant	HU Recombinant	BMO	SE454-0100	100µg	¥ 67,000		凍
MKP-1 (MAP Kinase Phosphatase 1)	HU Recombinant	BMO	SE439-0100	100µg	¥ 69,000		凍
PDHP	BOV Native	GBZ	GLO136-001	1µg	¥ 83,000	毒劇	凍
Phosphoethanolamine/ phosphocholine phosphatase, Recombinant	HU Recombinant, <i>E.coli</i> , His-tag	BVL	RD172117100	0.1mg	¥ 64,000		凍
Phosphoserine Phosphatase	HU Recombinant, <i>E.coli</i> , His-tag	GNW	CB-10-002-38050	0.1mg	¥ 105,000		凍
Phosphoserine Phosphatase	HU Recombinant	CL	CLPKA224	5µg	¥ 20,000		凍
Phosphoserine phosphatase	HU Recombinant, <i>E.coli</i>	ATG	PSP0551	100µg	¥ 41,000		凍
Phosphoserine Phosphatase (PSP)	HU Recombinant, <i>E.coli</i> , His-tag	GNW	CB-10-663-45546	0.02mg	¥ 80,000		凍
Phosphoserine Phosphatase	HU Recombinant, <i>E.coli</i> , His-tag	BLG	30-A-224	5µg	¥ 20,000		冷
PLAP	HU Recombinant, <i>E.coli</i> , His-tag	BLG	30-Z-333	5µg	¥ 126,000		凍
PP1C	RAB Native	GBZ	GLO133-001	1µg	¥ 83,000		凍

品名	由来	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PP1 α (Protein Phosphatase 1, catalytic subunit, α isoform)	HU	Recombinant (insect cellsで発現)	BMO	SE497-0100	100 μ g	¥ 62,000	凍
PP2A1	BOV	Native	GBZ	GLO130-001	1 μ g	¥ 60,000	凍
PP2A2	BOV	Native	GBZ	GLO131-001	1 μ g	¥ 83,000	凍
PP2AC	BOV	Native	GBZ	GLO132-001	1 μ g	¥ 83,000	凍
PP2C	BOV	Native	GBZ	GLO135-001	1 μ g	¥ 83,000	毒 凍
PPM1G	HU		BLG	30-Z-368	10 μ g	¥ 20,000	凍
PRL-3	HU	Recombinant	JNA	PR-330	20 μ g	¥ 38,000	凍
Protein Phosphatase 1, A-isoform, Recombinant	RAB	Recombinant	CBC	539493	100ユニット	¥ 62,400	凍
Protein Phosphatase 1, Catalytic Subunit, γ 1-Isoform	XEN	Recombinant	CBC	539527	10ユニット	¥ 80,700	毒 凍
Protein Phosphatase 2A1	BOV	Native	CBC	539508	1 μ g	¥ 67,600	凍
Protein Phosphatase 2A2, Bovine Kidney	BOV	Native	CBC	539510	1 μ g	¥ 70,900	凍
Protein Phosphatase 2B,	HU	Recombinant	CBC	539568	5000ユニット	¥ 76,000	凍
Protein Phosphatase 2C alpha, Recombinant	HU		BLG	30-A-222	10 μ g	¥ 20,000	冷
Protein Phosphatase 2C α (PP2C α)	HU	Recombinant, <i>E. coli</i>	IBL	01-2220	50 μ g	¥ 152,000	
Protein Phosphatase 2C α (PP2Ca)	HU		GNW	CB-10-663-45544	0.05mg	¥ 80,000	凍
Protein Phosphatase 2C α Recombinant	HU	Recombinant	CL	CLPKA222	10 μ g	¥ 20,000	冷
Protein Phosphatase 2Ca, His Tag, Recombinant, <i>E. coli</i>	HU	Recombinant	CBC	539569	50 μ g	¥ 62,700	凍
PSPH	HU		BLG	30-A-224	20 μ g	¥ 53,000	冷
PTEN	HU	Recombinant	JNA	PR-930	5 μ g	¥ 30,000	凍
PTP1B	HU	Recombinant	JNA	PR-931	20 μ g	¥ 38,000	凍
PTP1B	HU	Recombinant	RSD	1366-PT-050	50 μ g	¥ 60,000	凍
PTP-1B	HU		BLG	30-A-219	50 μ g	¥ 53,000	冷
PTPRO (C-300aa)	HU	Recombinant	PGI	AG2802	100 μ g	¥ 55,000	凍
PTP-SL-ex (S3 mutant)	MS	Recombinant	JNA	PR-319	10 μ g	¥ 48,000	凍
PTP μ , Recombinant (cytoplasmic region) (D1D2)	HU	Recombinant, <i>E. coli</i>	JNA	PR-349	20 μ g	¥ 38,000	凍
SHIP2 Lipid Phosphatase	—	Synthetic	ECL	E-1000	10 μ g	¥ 76,000	毒 冷
SHP-1	HU	Recombinant, <i>E. coli</i>	ATG	SHP2051	100 μ g	¥ 41,000	毒 凍
SHP-1	HU	Recombinant, <i>E. coli</i>	ATG	SHP2001	0.5mg	¥ 120,000	毒 凍
SHP-1, Recombinant	HU	Recombinant, <i>E. coli</i> , GST-tag	JNA	PR-901	20 μ g	¥ 38,000	凍
Subunit A of Protein Phosphatase 2A	HU	Recombinant, <i>E. coli</i>	GBZ	GLO138-001	1 μ g	¥ 90,000	毒 凍
VHR	HU	Recombinant	RSD	1654-VH-050	50 μ g	¥ 60,000	凍
VHR	HU	Recombinant	JNA	PR-350	20 μ g	¥ 38,000	凍

インヒビター

■カルシニューリン(PP2B)インヒビター

品名	由来	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Calcineurin Autoinhibitory Peptide	Synthetic	CBC	207000	250 μ g	¥ 25,400		凍
ITSFEEAKGLDRINERMPPRRDAMP Calcineurin Autoinhibitory		ESP	PKS051	1mg	¥ 31,600		冷
Calcineurin Autoinhibitory Peptide		SCY	55228.0005	0.5mg	¥ 19,000		冷
Calcineurin Autoinhibitory Peptide		GNW	CB-06-271-83134	0.5mg	¥ 40,000		凍
Calcineurin Autoinhibitory Peptide		BMO	PR104-0500	500 μ g	¥ 19,000		凍
Calcineurin Autoinhibitory Fragment	Synthetic	BAC	H-8910.0500	0.5mg	¥ 34,000		凍
Calcineurin Autoinhibitory Fragment	Synthetic	ASI	22986	0.5mg	¥ 20,000		凍
Cypermethrin		CBC	239900	10mg	¥ 18,500	劇 冷	
Cypermethrin	Synthetic	SCB	SC-24012	10mg	¥ 6,000	劇 凍	
Cypermethrin		BMO	PR100-0010	10mg	¥ 9,000	劇 毒	
Cypermethrin	—	ALX	430-044-M010	10mg	¥ 11,600	劇 凍	
Cypermethrin	Synthetic	ALO	C-470	1mg	¥ 9,000	劇 凍	
Deltamethrin		CBC	253300	10mg	¥ 23,400	劇 冷	
Deltamethrin	Synthetic	SCB	SC-24013	10mg	¥ 8,000	劇 凍	
Deltamethrin, [(S)- α -Cyano-3-phenoxybenzyl (1R)-cis-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropyl carboxylate]		BMO	PR101-0010	10mg	¥ 12,000	劇 毒	
Deltamethrin	—	ALX	430-045-M010	10mg	¥ 13,100	劇 冷	
Deltamethrin	Synthetic	ALO	D-500	0.5mg	¥ 20,000	劇 凍	
Fenvalerate	Synthetic	CBC	341380	25mg	¥ 14,500	劇 冷	
Fenvalerate	Synthetic	SCB	SC-24014	25mg	¥ 5,000	劇 冷	
Fenvalerate		BMO	PR102-0020	20mg	¥ 7,000	劇 毒	
Fenvalerate	—	ALX	550-267-M025	25mg	¥ 11,600	劇 毒	
Fenvalerate	Synthetic	ALO	F-420	1mg	¥ 9,000	劇 凍	
Gossypol		BMO	E1130-0020	20mg	¥ 9,000		冷

品名	由来	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Gossypol	Native	ALX	350-113-M100	100mg	¥ 23,200		冷
Permethrin, [3-Phenoxybenzyl (1RS)-c/t-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropane carboxylate]		BMO	PR103-0010	10mg	¥ 7,000		室
Permethrin	—	ALX	430-046-M010	10mg	¥ 5,800		冷
Permethrin	Synthetic	ALO	P-400	0.4mg	¥ 30,000		凍
Tyrphostin 8 [AG-10], [4-Hydroxybenzylidenemalononitrile]		BMO	PR113-0010	10mg	¥ 14,000	劇	室
Tyrphostin A8	—	ALX	270-166-M005	5mg	¥ 8,700	劇	凍

■PP1インヒビター

品名	由来	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Protein Phosphatase Inhibitor 2, Human, Recombinant	Recombinant	CBC	539638	100µg	¥ 53,000		凍
Protein Phosphatase 2A Inhibitor I ₁ ^{PP2A}	Recombinant	CBC	539552	250ng	¥ 58,000	毒	凍
I2a-GST (PP2A inhibitor protein)	Recombinant	GBZ	GLO145-001	1µg	¥ 83,000		凍
I1a-GST (PP2A inhibitor protein)	Recombinant	GBZ	GLO144-001	1µg	¥ 83,000		凍
I2bPP2A (PP2A inhibitor protein)	Recombinant	GBZ	GLO143-250	250ng	¥ 83,000		凍
I2aPP2A (PP2A inhibitor protein)	Recombinant	GBZ	GLO141-250	250ng	¥ 83,000		凍
I1aPP2A (PP2A inhibitor protein)	Recombinant	GBZ	GLO140-250	250ng	¥ 83,000		凍
Protein Phosphatase 2A Inhibitor I ₂ ^{PP2A}	Recombinant	CBC	539620	250ng	¥ 58,000		凍
Protein Phosphatase Inhibitor 2	Recombinant	CBC	539516	20µg	¥ 52,000		凍
Protein phosphatase inhibitor 2 (<i>E.coli</i>)	Recombinant	BMO	SE130-0010	10µg	¥ 23,000		凍

■PP1/PP2Aインヒビター

品名	由来	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Calyculin A	Discodermia calyx, Native	CBC	208851	10µg	¥ 14,100	劇	凍
Calyculin A		SCB	SC-24000	10µg	¥ 9,000	劇	凍
Calyculin A	—	LKT	C0346	10µg	¥ 24,600	劇	冷
Calyculin A	—	BSO	PHZ1044	25µg	¥ 42,000		凍
Calyculin A		BMO	EI192-0025	25µg	¥ 24,000	劇	凍
Calyculin A	Native	ALX	350-014-C010	10µg	¥ 13,800	劇	凍
Calyculin A	Discodermia calyx, Native	ALO	C-100	10µg	¥ 17,000	劇	凍
Calyculin A, Discodermia calyx	Discodermia calyx	AGS	C-1031	50µg	¥ 40,000	劇	凍
Cantharidic Acid, [2,3-Dimethyl-7-oxabicyclo[2.2.1]heptane dicarboxylic acid]		BMO	PR106-0010	10mg	¥ 11,000		室
Cantharidic Acid	Synthetic	CBC	210150	10mg	¥ 17,000		室
Cantharidic Acid	—	ICN	158883	5mg	¥ 17,100		凍
Cantharidic Acid, [2,3-Dimethyl-7-oxabicyclo[2.2.1]heptane dicarboxylic acid]		BMO	PR106-0050	50mg	¥ 42,000		室
Cantharidic Acid, Disodium Salt	—	ALX	270-062-M010	10mg	¥ 31,900		冷
Cantharidic Acid, Disodium Salt	—	ALO	C-250	1mg	¥ 11,000		凍
1,4-Dimethylendothall	Synthetic	CBC	311250	10mg	¥ 20,900		冷
1,4-Dimethylendothall, [1,4-Dimethyl-7-oxabicyclo[2.2.1]heptane-2,3-dicarboxylic acid]		BMO	PR108-0010	10mg	¥ 10,000		室
Microcystin-LR		ALX	350-012-C050	50µg	¥ 8,700		凍
Okadaic Acid, Prorocentrum concavum	Prorocentrum concavum, Synthetic	CBC	495604	10µg	¥ 9,400		凍
Okadaic Acid, Sodium salt	Synthetic	CBC	459620	25µg	¥ 16,100		凍
Okadaic Acid, Potassium salt	Synthetic	CBC	459618	50µg	¥ 24,500		凍
Okadaic Acid, Ammonium salt	Synthetic	CBC	459616	25µg	¥ 14,000		凍
Okadaic Acid	Synthetic	SCB	SC-3513	25µg	¥ 6,000		凍
Okadaic Acid, Ammonium salt	—	LKT	O4102	25µg	¥ 15,600		凍
Okadaic Acid	—	LKT	O4101	25µg	¥ 16,800		凍
Okadaic acid		BMO	EI181-0025	25µg	¥ 17,000		凍
Okadaic Acid	—	AQI	I-1511	25µg	¥ 24,000		凍
Okadaic Acid, Potassium salt	—	ALX	350-063-C050	50µg	¥ 19,600		凍
Okadaic Acid, Sodium salt	—	ALX	350-011-C025	25µg	¥ 13,100		凍
Okadaic Acid, Ammonium salt	—	ALX	350-010-C025	25µg	¥ 13,100		凍
Okadaic Acid	Native	ALX	350-003-C025	25µg	¥ 13,100		凍
Okadaic Acid, Sodium salt	—	ALO	O-900	25µg	¥ 14,000		凍
Okadaic Acid	Synthetic	ALO	O-800	25µg	¥ 14,000		凍
Okadaic acid, Sodium Salt	Prorocentrum concavum	AGS	O-1030	25µg	¥ 9,000		凍
Okadaic acid, Potassium Salt	Prorocentrum concavum	AGS	O-1028	50µg	¥ 13,000		凍
Okadaic acid, Ammonium Salt	Prorocentrum concavum	AGS	O-1026	25µg	¥ 7,000		凍
Okadaic acid	Prorocentrum concavum	AGS	O-1024	50µg	¥ 15,000		凍
Tautomycin, Streptomyces spiroverticillatus	Native	CBC	580551	50µg	¥ 54,400		凍
Tautomycin		BMO	EI243-0025	25µg	¥ 45,000		凍
Tautomycin	—	AQI	I-2005	50µg	¥ 59,000		凍
Tautomycin	Native	ALX	380-041-C025	25µg	¥ 36,300		凍
Tautomycin	—	AGS	T-1142	50µg	¥ 43,000		凍

■PP2Aインヒビター

品名	由来	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Endothall	Synthetic	CBC	324760	20mg	¥ 14,500		冷
Endothall, [7-Oxabicyclo [2.2.1] heptane-2,3-dicarboxylic acid]		BMO	PR107-0020	20mg	¥ 7,000	劇	冷
Endothall		ALO	E-180	5mg	¥ 11,000		冷

■チロシンホスファターゼインヒビター

品名	由来	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Benzylphosphonic acid-(AM) 2, [Benzylphosphonic acid bis acetoxymethyl ester]		BMO	EI245-0010	10mg	¥ 13,000		冷
Benzylphosphonic acid		BMO	EI244-0100	100mg	¥ 6,000		冷

■その他ホスファターゼインヒビター

品名	由来	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
BML-260, [4- (5-Benzylidene-4-oxo-2-thioxothiazolidine-3-yl) benzoic acid]		BMO	PR119-0050	50mg	¥ 51,000		冷
BML-260, [4- (5-Benzylidene-4-oxo-2-thioxothiazolidine-3-yl) benzoic acid]		BMO	PR119-0010	10mg	¥ 13,000		冷
RK-682, Streptomyces sp.		CBC	557322	200µg	¥ 26,600		冷
RK-682		BMO	PR112-0200	200µg	¥ 17,000		冷
RK-682		ALX	380-205-MC05	0.5mg	¥ 49,300		冷

GTP結合タンパク質の解析 Analysis of GTP-binding protein

ヒト生体の 10^{13} 個に及ぶ細胞は、絶えず外界や他の細胞からのシグナルに応答しなければなりません。細胞内シグナルパスウェイによるこれらシグナルの認識、処理そして伝達はほとんど全ての生体過程(代謝・成長・増殖・アポトーシス・分化)を制御しています。シグナリングパスウェイの妨害や機能障害は正常細胞の機能に大きな支障をもたらし、正常細胞を腫瘍細胞へと変化させることもあります。

多くのシグナル伝達過程は、Rasスーパーファミリーに属する低分子GTPaseやヘテロ3両体Gタンパク質といった GTP結合タンパク質(Gタンパク質)によって制御されています。Gタンパク質はGDP結合型(不活性型)/GTP結合型(活性型)の分子スイッチとして働いています。

低分子GTPase

RasスーパーファミリーのGTPaseには生存に不可欠な増殖機能の調整をしているタンパク質を含め、100種類以上のタンパク質があります。これらタンパク質は配列のホモロジーから5つの主要グループ、Rasファミリー・Rabファミリー・Ranファミリー・Rho/Rac/Cdc42ファミリー・Sar1/Arfファミリーに分けられています。

ヒト悪性腫瘍のうち30~60%からはRasタンパク質の変異が見つかっており、他のRho、RacといったGTPaseもまた腫瘍形成に関わっています。

●Rasファミリー

Rasタンパク質は分子量21kDaの低分子量GTPaseです。ヒト悪性腫瘍のうち30~60%からはRasタンパク質の変異が見ついています。

●Rabファミリー

Rabタンパク質はRasスーパーファミリーのうち最も大きなファミリーを形成している低分子GTP結合タンパク質です。Rabタンパク質は小胞輸送を制御し、膜関連分子スイッチとして働きます。

●Ranファミリー

Ran(Ras関連核タンパク質)はタンパク質やRNAの核-細胞質間輸送や紡錘体形成、分裂後の核膜形成といった様々な細胞過程に関わっています。Ranによって制御される核-細胞質間輸送は核膜孔を通して、輸入・輸出の両方を併せて起こります。

●Rho/Rac/Cdc42ファミリー

Rho/Rac/Cdc42ファミリーのGTPaseはアポトーシスや増殖、収縮、ストレス応答、細胞成長、調整、炎症、悪性形質転換そして遺伝子転写といった様々な細胞応答を制御するタンパク質と相互作用しています。

代表的なシグナル経路

引用 JENA BIOSCIENCE 社

Gタンパク質活性測定キット G-LISA™

低分子量Gタンパク質活性を測定する新しい方法！

背景

従来Rhoタンパク質の活性を測定するにはブルダウンアッセイを行っていました。しかしこの手法は時間がかかり、大量のサンプルを必要とするためハイスループットスクリーンには最適とはいえませんでした。これらの問題を解消するために、G-LISA™アッセイを確立しました。

使用目的

細胞や組織サンプルのRhoファミリーに属する各タンパク質(Rac1、Rac1・2・3、RhoA、Cdc42)の活性を測定するELISAキットです。

従来のブルダウンアッセイとの比較

	従来のブルダウンアッセイ	G-LISA™キット
アッセイ時間	10~12時間(2日間)	3時間未満
必要な細胞(タンパク質)量	1~2mgタンパク質(100mmプレート)	1~50µgタンパク質(12ウェルプレート)
ライセートの沈殿	必要	不要
サンプル処理能	10種類まで	96種類まで(or それ以上)
定量性	準定量性あり	定量性あり
ハイスループット処理	×	○

特長

従来のブルダウンアッセイと比較して、以下の特長があります(表参照)。

- シンプルな操作で迅速に結果が得られます。
- 少量のサンプルで測定が可能です。
- 高感度かつ定量的です。

構成内容

- 96ウェル Rho-GTPアフィニティプレート(品番: BK121、BK124)
- 96ウェル Rac-GTPアフィニティプレート(品番: BK125、BK126)
- 96ウェル Cdc42-GTPアフィニティプレート(品番: BK127)
- 一次抗体
- 二次抗体
- ポジティブコントロール用タンパク質
- バッファー/アッセイ試薬
- 細胞溶解液濃度測定用試薬
- 発光検出用試薬(品番: BK121、BK126)
- 比色検出用試薬(品番: BK124、BK125、BK127)

【メーカー: CYT】

品名	検出	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
G-LISA™ Rac Activation Kits	比色	BK125	96アッセイ	¥ 163,000		冷蔵
G-LISA™ Cdc42 Activation Kits	比色	BK127	96アッセイ	¥ 171,000		冷蔵
G-LISA™ Rac1 Activation Assay	発光	BK126	1キット	¥ 168,000		冷蔵
G-LISA™ Rho Activation kits	比色	BK124	96アッセイ	¥ 163,000		冷蔵
G-LISA™ Rho Activation kits	発光	BK121	96アッセイ	¥ 163,000		冷蔵

Gタンパク質：エフェクター相互作用アッセイ G-LISA™

ELISA法を用いて、Gタンパク質とエフェクターの相互作用を解析！

使用目的

*In vitro*で、低分子量Gタンパク質とエフェクターの相互作用をアッセイするキットです。細胞ベースのG-LISA™ アッセイと同様の便利な96ウェルフォーマットですが、精製タンパク質を用いて実験を行う点が異なります。このキットを用いて、Rhoファミリーメンバーとそれらに特異的な下流のエフェクター間の相互作用を壊す分子の同定を行うことができます。

特長

- アッセイに必要な試薬は全て含まれています。
- 96ウェルプレートを用いてアッセイを行うことができます。

適用

- 新規降圧剤のスクリーニングに。
- 新規抗がん剤のスクリーニングに。
- 新規神経再生剤のスクリーニングに。
- 抗血管新生剤のスクリーニングに。
- 抗アポトーシス剤のスクリーニングに。
- 特異性向上のための二次アッセイに。

参考文献

1. Lee *et al.* 2004, Hypertension, 44, 796-799.
2. Gomez del Pulgar *et al.* 2005, BioEssays, 27, 602-613.
3. Mueller *et al.* 2005, Nat. Rev. Drug Discov., 4, 387-398.
4. van Golen *et al.* 1999, Clin. Cancer Res., 5, 2511-2519.
5. Fryer and Field 2005, Cancer Lett., 229, 13-23.
6. Xu Z. *et al.* 2003, EMBO J., 22, 252-261.
7. Rao and Li 2004, Curr. Cancer Drug Targets, 4, 345-354.
8. Bollag *et al.* 2003, Curr. Opin. Investig. Drugs., 4, 1436-1441.
9. Adjei 2001, J. Natl. Cancer Inst. 93, 1062-1074.

検出方法

固定化されたエフェクタータンパク質が、活性型の低分子量Gタンパク質と結合すると、一般的なELISA法により検出できる。インヒビター (i) が活性型の低分子量Gタンパク質の結合を抑制することにより、シグナルは減少する。シグナル/ノイズ比は通常、8:1から12:1。

低分子量Gタンパク質：エフェクター阻害アッセイ

Rhoファミリータンパク質に対するエフェクターは、96ウェルプレートの各ウェルに共有結合されている。化合物を各ウェルに加えた後、10ngの低分子量Gタンパク質を添加した。洗浄後、一次抗体と二次抗体を用いて、通常のELISA法により解析した。Cdc42、Rac1、RhoAに対するエフェクターはそれぞれ、WASP (品番BK122J)、POSH (品番BK122H)、ROCK (品番BK122D)。インヒビターにはそれぞれ、50nmのPAK、PAK、Rhotekinを使用した。

【メーカー：CYT】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
G-LISA™ for Rho A::Rhotekin interaction, HTS assays	BK122A	1キット	ご照会		☉
G-LISA™ for Rho B::Rhotekin interaction, HTS assays	BK122B	1キット	ご照会		☉
G-LISA™ for Rho C::Rhotekin interaction, HTS assays	BK122C	1キット	ご照会		☉
G-LISA™ for Rho A::ROCK interaction, HTS assays	BK122D	1キット	ご照会		☉
G-LISA™ for Rho B::ROCK interaction, HTS assays	BK122E	1キット	ご照会		☉
G-LISA™ for Rho C::ROCK interaction, HTS assays	BK122F	1キット	ご照会		☉
G-LISA™ for Rac 1::PAK interaction, HTS assays	BK122G	1キット	ご照会		☉
G-LISA™ for Rac 1::POSH interaction, HTS assays	BK122H	1キット	ご照会		☉
G-LISA™ for Cdc42::PAK interaction, HTS assays	BK122I	1キット	ご照会		☉
G-LISA™ for Cdc42::WASP interaction, HTS assays	BK122J	1キット	ご照会		☉
G-LISA™ for H-Ras::Raf kinase interaction, HTS assays	BK122K	1キット	ご照会		☉
G-LISA™ for K-Ras::Raf kinase interaction, HTS assays	BK122L	1キット	ご照会		☉
G-LISA™ for Other small G-protein::Effector combo, HTS assays	BK122X	1キット	ご照会		☉

商品は、受注生産品です。詳細はお問い合わせください。

低分子量タンパク質活性アッセイ Biochem Kits™

低分子量Gタンパク質活性化を、プルダウンアッセイで簡単に測定！

使用目的

低分子量GタンパクのRhoタンパクファミリーはRac1、RhoA、Cdc42に代表される14の因子で構成され、GTPが結合した活性型とGDPが結合した不活性型があります。Cdc42/Racエフェクタータンパク(p21活性化キナーゼ1:PAK)のCdc42/Rac相互作用領域CRIB(p21結合ドメイン:PBD)はGTP結合型のRacもしくはCdc42タンパクと特異的に結合します。

RhoタンパクはGTPが結合した活性型とGDPが結合した不活性型があります。RhoエフェクタータンパクのRhotekinはGTP結合型Rhoに特異的に結合します。

Rasスイッチは、GTP結合状態の活性型とGDP結合状態の不活性型の互換性を用いて作用します。Ras様GTPase活性化/不活性化制御のメカニズムの理解は、生物学上非常に重要で、研究対象として注目を集めています。

構成内容

[共通]

- Cell lysis Buffer
- Loading Buffer
- GTP γ S: (non hydrolysable GTP analog)
- GDP
- Protocol
- Wash Buffer
- Stop Buffer
- Protease inhibitor cocktail

[品番ごとに異なる構成品]

品番BK034

- GST tagged PAK PBD protein Beads
- Cdc42 polyclonal antibody
- Cdc42 His tagged protein

品番BK035

- GST tagged PAK PBD protein Beads
- Rac1 polyclonal antibody
- Rac1 His tagged protein

品番BK036

- GST tagged Rhotekin PBD protein Beads
- Rho polyclonal antibody
- RhoA His tagged protein

品番BK008

- GST tagged Raf1-RBD protein bound to colored glutathione agarose beads
- p21 Ras monoclonal antibody

特長

- 迅速なアフィニティ精製により、各Gタンパク質活性化をモニターします。
- アッセイに必要なアフィニティ試薬とバッファーが含まれています。

色のついたグルタチオンアガロースビーズで、操作が簡単です。

図. Rho活性アッセイキットの原理

【メーカー：CYTJ】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Cdc42活性アッセイキット Cdc42 Activation Assay Kit	BK034	1キット	¥119,000		冷蔵
Rac1活性化アッセイキット Rac1 Activation Assay Kit	BK035	1キット	¥119,000		冷蔵
Rho活性化アッセイキット Rho Activation Assay Kit	BK036	1キット	¥119,000		冷蔵
Ras活性化アッセイキット Ras activation Assay Biochem Kit	BK008	1キット	¥119,000		冷蔵

エフェクタータンパク質/アフィニティビーズ

【メーカー：CYTJ】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Raf-RBD domain protein agarose beads	RF02-A	1×2mg	¥78,000		凍
	RF02-B	4×2mg	¥199,000		凍
PAK-PBD protein, GST-tagged	PAK01-A	1×250μg	¥57,000		凍
	PAK01-B	4×250μg	¥157,000		凍
PAK-PBD protein agarose beads	PAK02-A	1×500μg	¥75,000		凍
	PAK02-B	4×500μg	¥199,000		凍
Rhotekin-RBD domain protein, GST-tagged	RT01-A	1×500μg	¥78,000		凍
	RT01-B	3×500μg	¥194,000		凍
Rhotekin-RBD protein agarose beads	RT02-A	2×2mg	¥78,000		凍
	RT02-B	6×2mg	¥194,000		凍

RhoGAP assay kit

GAP活性制御の研究に！

背景

small GTPase (Ras, Rho, Rab, ArfおよびRan) のRasスーパーファミリーは、シグナルのダウンストリームを介するGDP結合“OFFの状態”とGTP結合“ONの状態”の間をサイクルするスイッチとして機能します。細胞において、この2つの状態のサイクルは主に2つのタイプの制御タンパク質によりコントロールされています。その制御タンパク質の1つはactivating Guanine nucleotide Exchange Factors (GEFs)、もう1つはinactivating GTPase Activating Proteins (GAPs) です。

使用目的

このGAP assay kitは、GDP+PiへのGTPのGタンパク質依存性加水分解の結果として生じる無機リン酸塩 (Pi) の量を測定し、GTPase特異性や活性を解析できます。キットにはアッセイに必要なとされる試薬がすべて入っています。

構成内容

- Reaction Buffer (2×)
- His-tagged Cdc42 protein (品番CD01)
- His-tagged Rac 1 protein (品番RC01)
- His-tagged RhoA protein (品番RH01)
- His-tagged Ras protein (品番RS01)
- GST-tagged p50RhoGAP, catalytic domain (品番GAS01)
- 100mM GTP stock (品番BST006)
- CytoPhos reagent
- 96well clear half area flat bottom plate
- Detailed instructions and troubleshooting manual

【メーカー：CYT】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
RhoGAPアッセイキット (非放射性) Rho GAP Assay Kit (non-radioactive)	BK105	1キット	¥ 120,000		冷蔵

Gタンパク質サブユニット抗体セット

低コストの抗体セット！

品名	構成内容	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Gタンパク質サブユニット抗体セット G Protein Subunit Antibody Set	<ul style="list-style-type: none"> • Anti-Giα-1 (別売り品番371720) • Anti-Giα-1 and Giα-2 (別売り品番371723) • Anti-Giα-3 and Gα (別売り品番371726) • Anti-Giα-3 (別売り品番371729) • Anti-Gsα (別売り品番371732) • Anti-Gβ-Subunit (別売り品番371738) 	CBC	371770	1セット	¥ 101,200		冷蔵
G Protein antibody set	<ul style="list-style-type: none"> • Gβ-subunit internal (別売り品番SA-125) • Gαi1 (別売り品番SA-127) • Gαi1 and Gαi2 subunits (別売り品番SA-128) • Gαi3 (別売り品番SA-129) • Gαi3 and Gα0 (別売り品番SA-130) • Gαs (別売り品番SA-131) • Gαq/11 (別売り品番SA-232) 	BMO	SA182-0001	1セット	¥ 120,000		冷蔵

RhoGEF exchange assay

GEFインヒビターの同定に！

使用目的

RhoGEF交換反応アッセイキットにおける蛍光プローブに基づくアッセイ系は、96ウェルまたは384ウェルのフォーマットを用いてGTPaseにおけるヌクレオチドの交換を測定するのに最適です。このキットは蛍光ヌクレオチド類似体であるN-methylanthraniloyl-GTP (mant-GTP) のGTPaseへの取り込みを測定します。この取り込みは、フリーなmant-GTPとGTPaseに結合したmant-GTP間の分光学的差異によって測定します。

構成内容

- Exchange Buffer (2×)
- His-tagged Cdc42 protein (品番CD01)
- His-tagged Rac 1 protein (品番RC01)
- His-tagged RhoA protein (品番RH01)
- His-tagged hDbs protein (品番GEO1)
- 384-well black half area round bottom plate
- 96-well black half area flat bottom plate
- Detailed instructions and troubleshooting manual

図. Dbs exchange activity for Cdc42, RhoA and Rac1

【メーカー：CYT】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
RhoGEF交換反応アッセイキット Biochem™ RhoGEF Exchange Assay Biochem Kit™	BK100	1キット	¥ 125,000		冷蔵

低分子量GTPase活性化アッセイキット

背景

分子量約100kDaのヘテロ三量体Gタンパク質とは異なり、低分子量GTPaseの分子量は約20~30kDaで、GDP結合型(不活性型)あるいはGTP結合型(活性型)として単量体で存在しています。GDP結合型とGTP結合型との間を行き来するための因子が細胞内には存在し、GDP型からGTP型に変換させて低分子量GTPaseを活性化させるタンパク質をグアニンヌクレオチド交換因子(GEF)と呼びます。反対に、GTP型をGDP型に加水分解することで低分子量GTPaseを不活性化させるタンパク質をGTPase活性化タンパク質(GAP)と呼びます。すなわち、低分子量GTPaseはGEFとGAPにより“ON”、“OFF”の状態を制御されています。

使用目的

低分子量GTPase活性化アッセイキットは、可視のアガロースビーズを用いて活性型の低分子量GTPaseを選択的にプルダウンするアッセイキットです。沈殿したGTPaseをキットに含まれる抗体を用いてWBで検出します。

特長

- 短時間でアッセイ終了：インキュベーション(1時間)、電気泳動、WBで実験終了。
- 安全：放射性同位体は使用しません。
- 目視によるチェック：アガロースビーズは目に見えるので、確認しながら操作ができます。
- コントロール付き：WB用コントロールが添付されています。

構成内容

- アフィニティーアガロースビーズ*
 - 抗体*
 - GTP γ S (100X)
 - Assay/Lysis Buffer (5X)
 - GDP (100X)
 - GTPase WBポジティブコントロール
- *キットにより内容物が異なります。

技術情報 は、119ページ参照

図1 Rhoの活性化・不活性化サイクル

図2 アッセイ原理

図3 Rac Activation Assay

(品番STA-401)を用いたWB

レーン1: GTPase WBポジティブコントロール

レーン2: 293細胞ライゼートをGDPと一緒に流し、PAK1 PBDアガロースビーズとインキュベーション

レーン3: 293細胞ライゼートをGTP γ Sと一緒に流し、PAK1 PBDアガロースビーズとインキュベーション

【メーカー：CBL】

品名	エフェクター	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Cdc42 Activation Assay Kit	PAK1	STA-402	1キット(20アッセイ)	¥98,000	毒	凍
Rac Activation Assay Kit	PAK1	STA-401	1キット(20アッセイ)	¥98,000	毒	凍
Ras Activation Assay Kit	Raf1	STA-400	1キット(20アッセイ)	¥98,000	毒	凍
Rho Activation Kit	Rhotekin	STA-403	1キット(20アッセイ)	¥98,000	毒	凍
Rac/Cdc42 Activation Assay Combo Kit	PAK1	STA-404	1キット(2×20アッセイ)	¥172,000	毒	凍
Rho/Rac/Cdc42 Activation Assay Combo Kit	PAK1/Rhotekin	STA-405	1キット(3×10アッセイ)	¥172,000	毒	凍

■アフィニティーアガロースビーズ

【メーカー：CBL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PAK1 PBD (p21-Binding Domain) Agarose Beads	STA-411	400 μ g	¥70,000		凍
Raf1 RBD (Ras-Binding Domain) Agarose Beads	STA-410	400 μ g	¥70,000		凍
Rhotekin RBD (Rho-Binding Domain) Agarose Beads	STA-412	400 μ g	¥70,000		凍

cAMPおよびcGMP ELISA キット

Gタンパク質パスウェイの解析が行えます。

使用目的

cAMP/cGMP ELISAキットは、細胞培養上清、血清、血漿、唾液、尿、セルライゼートのcAMP/cGMPを比色または蛍光で検出するELISAキットです。本キットは、他のヌクレオチドや環状ヌクレオチドの交差性は無く、高感度に検出できます。

検出範囲：1 pmol/mL～1,000 pmol/mL

図1 アッセイ原理

【メーカー：CBL】							
品名	検出	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵	
cAMP ELISA Kit	化学発光	STA-501	96アッセイ	¥97,000	毒	冷	
		STA-501-5	5×96アッセイ	¥387,000	毒	冷	
cAMP ELISA Kit	比色	STA-500	96アッセイ	¥97,000	毒	冷	
		STA-500-5	5×96アッセイ	¥387,000	毒	冷	
cGMP ELISA Kit	化学発光	STA-506	96アッセイ	¥97,000	毒	冷	
		STA-506-5	5×96アッセイ	¥387,000	毒	冷	
cGMP ELISA Kit	比色	STA-505	96アッセイ	¥97,000	毒	冷	
		STA-505-5	5×96アッセイ	¥387,000	毒	冷	

活性化Rac-GEFアッセイ

使用目的

グアニン・ヌクレオチド交換因子(GEF)は、GDPからGTPへの変換を触媒することで低分子量GTPaseを活性化します。セルバイオラボ社のActive Rac-GEF Assay Kitは、Rac1 G15Aアガロースビーズを使用して活性型GTPaseをプルダウンした後に、特異的GEFとして知られるTiam1の抗体を用いて検出します。

構成内容

- Rac1 G15Aアフィニティーアガロースビーズ
- Assay/Lysis Buffer (5x)
- Tiam1 ウサギポリクローナル抗体

アガロースビーズの様子

アガロースビーズを用意に観察できるので、洗浄、吸引操作によるロスを最小限に抑えることができる。

【メーカー：CBL】					
品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Active Rac-GEF Assay Kit (Tiam1, 20 Assays)	STA-422	1キット	¥136,000	毒	

関連商品

【メーカー：CBL】					
品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Rac1 G15A, Agarose (Active Rac-GEF)	STA-432	800µg	¥108,000	毒	
Cdc42 G15A, Agarose (Active Cdc42-GEF)	STA-433	800µg	¥108,000	毒	

Screen Quest™ カルシウムアッセイキット

GPCRとカルシウムチャンネルのモニタリング用指示薬！

背景

Calcium flux assayは、創薬のG蛋白質共役型受容体 (GPCR)のスクリーニングに適した方法です。Screen Quest™ Fluo-8 NW Calcium Assayは、細胞内のカルシウム動態を検出するホモジニアスな蛍光ベースアッセイです。

特長

- シグナル強度を増加：Fluo-8 NWは、Fluo-4 AMの2倍、Fluo-3 AMの4倍の明るさを示すカルシウム指示薬です。
- 洗浄ステップがないため、迅速に解析できます。
- リガンド、ターゲット干渉なく、多くのセルラインでご利用いただけます。

構成内容

- Fluo-8 NW
- 10X Pluronic F127 Plus
- HHBS

図1 Screen Quest™ Fluo-8 NW Calcium AssayキットとScreen Quest™ Fluo-4 AW Calcium Assayキットを用いたHEK293細胞のカルバコリン応答性
HEK-293細胞を96ウェルプレートに40,000細胞/100μlで播種し、一晚培養後、Screen Quest™ Fluo-8 NW Calcium AssayとScreen Quest™ Fluo-4 AW Calcium Assayキットをそれぞれ100μl加えて一時間反応させた。

推奨機器

FLIPR™, FDSS, NOVOSTar™, FlexStation, ViewLux, IN Cell Analyzer, ArrayScan

図2 HEK293細胞におけるATP応答性(蛍光強度の濃度依存変化と終時変化)
FLIPR™ (Molecular Devices) (左)とNOVOLtar™ (BMG Lab Tech) (右)を使用し、それぞれのScreen Quest™キットを用いて測定した。

図3 各キットの蛍光強度に比較

アッセイプロトコール(1プレート)

● **Medium Removal キット (検地除去)**：品番 36308 & 36309

細胞調製 ⇒ 培地除去 ⇒ Fluo-8 NW 添加 ⇒ インキュベーション ⇒ 測定

細胞増殖をよくする為に培地を除去せず実験したい場合は、Fluo-BAMが2倍濃い濃度の品番 36315&36316 をご使用ください。0.5～1% FBSを含む培地で培養しながら実験できます。

● **1% FBS Medium キット (検地使用)**：品番 36315 & 36316

0.5～1%FBS含培地で細胞培養 ⇒ Fluo-8 NW 添加 ⇒ インキュベーション ⇒ 測定

*Fluo-8NW 添加量：100μl/1 ウェル (96 ウェルプレート)
25μl/1 ウェル (384 ウェルプレート)
インキュベーションの条件：室温で1時間
測定波長：Ex=490nm / Em=520nm

【メーカー：ABD】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Screen Quest™ Fluo-8 NW Calcium Assay Kit *medium Removal	36308	1キット (10プレート)	¥48,000		凍
	36309	1キット (10×10プレート)	¥288,000		凍
Screen Quest™ Fluo-8 NW Calcium Assay Kit *1% FBS Growth Medium*	36315	1キット (10プレート)	¥47,000		凍
	36316	1キット (10×10プレート)	¥374,000		凍

Fluo-8™ カルシウム指示薬

【メーカー：ABD】

品名	吸収波長	測定波長	カルシウムとの親和性(Kd値)	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Quest Fluo-8™, AM *Cell-permeable*	490nm	514nm	389nM	21080	1mg	¥47,000		凍
				21081	5×50μg	¥18,000		凍
				21082	10×50μg	¥34,000		凍
				21083	20×50μg	¥57,000		凍
Quest Fluo-8™, sodium salt	490nm	514nm	389nM	21088	10×50μg	¥28,000		凍
Quest Fluo-8H™, AM *Cell-permeable*	490nm	514nm	232nM	21091	10×50μg	¥37,000		凍
				21090	1mg	¥57,000		凍
Quest Fluo-8H™, sodium salt	490nm	514nm	232nM	21095	10×50μg	¥37,000		凍
Quest Fluo-8L™, AM *Cell-permeable*	490nm	514nm	1.86nM	21097	10×50μg	¥37,000		凍
				21096	1mg	¥57,000		凍
Quest Fluo-8L™, sodium salt	490nm	514nm	1.86nM	21098	10×50μg	¥37,000		凍

低分子Gタンパク質及びインヒビター

低分子Gタンパク質

■Ras ファミリー

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
H-Ras (G12V)	Human (Recombinant)	JNA	PR-206	50µg	¥ 36,000		凍
H-Ras (G12V), Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST-tag)	JNA	PR-358	50µg	¥ 36,000		凍
H-Ras (Q61L)	Human (Recombinant)	JNA	PR-203	50µg	¥ 36,000		凍
H-Ras δC	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-201	50µg	¥ 36,000		凍
H-Ras δC (S17N)	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-202	50µg	¥ 36,000		凍
H-Ras, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST-tag)	JNA	PR-364	50µg	¥ 36,000		凍
H-Ras His Protein: Wild type		CYT	RS01-A	1×100µg	¥ 42,000		凍
K-Ras 4B	Human (Recombinant)	JNA	PR-204	50µg	¥ 36,000		凍
M-Ras/R-Ras3, Recombinant (Q71L)	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , his-tag)	JNA	PR-396	50µg	¥ 36,000		凍
N-Ras δC	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-205	50µg	¥ 36,000		凍
Rap 1a Protein wild type	Human (His-tag)	CYT	RR01-A	1×100µg	¥ 44,000		凍
Rap 1b Protein wild type	Human (His-tag)	CYT	RR02-A	1×100µg	¥ 44,000		凍
Rap1A, Recombinant (G12V)	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , his-tag)	JNA	PR-125	50µg	¥ 36,000		凍
Rap1B δC	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-301	50µg	¥ 36,000		凍
Rheb, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-126	50µg	¥ 36,000		凍
TC21/R-Ras2, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST-tag)	JNA	PR-359	50µg	¥ 36,000		凍
TC21/R-Ras2, Recombinant (Q72L)	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , his-tag)	JNA	PR-395	50µg	¥ 36,000		凍

■Rab ファミリー

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Rab1A, Recombinant	Mouse (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST+his-tag)	JNA	PR-113	50µg	¥ 36,000		凍
Rab1B, Recombinant	Rat (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST+his-tag)	JNA	PR-114	50µg	¥ 36,000		凍
Rab2	Human (Recombinant)	JNA	PR-111	50µg	¥ 36,000		凍
Rab2, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST+his-tag)	JNA	PR-112	50µg	¥ 36,000		凍
Rab3A, Recombinant	Mouse (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST+his-tag)	JNA	PR-115	50µg	¥ 36,000		凍
Rab3AGST-His, Recombinant	Rat (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-181	50µg	¥ 36,000		凍
Rab3CGST-His, Recombinant	Bovine (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-182	50µg	¥ 36,000		凍
Rab4A	Human (Recombinant)	JNA	PR-117	50µg	¥ 36,000		凍
Rab4A, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST+his-tag)	JNA	PR-116	50µg	¥ 36,000		凍
Rab4BGST-His, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-183	50µg	¥ 36,000		凍
Rab5A, Recombinant	Rat (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-184	50µg	¥ 36,000		凍
Rab6A	Human (Recombinant)	JNA	PR-109	50µg	¥ 36,000		凍
Rab7	Canine (Recombinant)	JNA	PR-108	50µg	¥ 36,000		凍
Rab7, Recombinant	Canine (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST+his-tag)	JNA	PR-362	50µg	¥ 36,000		凍
Rab9GST-His, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-185	50µg	¥ 36,000		凍
Rab11A, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-186	50µg	¥ 36,000		凍
Rab14, Recombinant	Rat (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-187	50µg	¥ 36,000		凍
Rab17	Mouse (Recombinant)	JNA	PR-119	50µg	¥ 36,000		凍
Rab17, Recombinant	Mouse (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST+his-tag)	JNA	PR-118	50µg	¥ 36,000		凍
Rab18AGST-His, Recombinant	Mouse (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-188	50µg	¥ 36,000		凍
Rab19GST-His, Recombinant	Mouse (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-189	50µg	¥ 36,000		凍
Rab22AGST-His, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-190	50µg	¥ 36,000		凍
Rab23, Recombinant	Mouse (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-191	50µg	¥ 36,000		凍
Rab24	Mouse (Recombinant)	JNA	PR-121	50µg	¥ 36,000		凍
Rab24, Recombinant	Mouse (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST+his-tag)	JNA	PR-120	50µg	¥ 36,000		凍
Rab27A	Rat (Recombinant)	JNA	PR-123	50µg	¥ 36,000		凍
Rab27A, Recombinant	Rat (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST+his-tag)	JNA	PR-122	50µg	¥ 36,000		凍
Rab27 delta C26, Recombinant	Rat (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-192	50µg	¥ 36,000		凍
Rab31GST-His, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-193	50µg	¥ 36,000		凍
Rab32, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-194	50µg	¥ 36,000		凍
Rab34GST-His, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-195	50µg	¥ 36,000		凍
Rab37GST-His, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-196	50µg	¥ 36,000		凍
RabGDI	Bovine (Recombinant, Sf9 cells)	JNA	PR-110*	50µg	¥ 36,000		凍

品番に*印の付いた商品は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法則」(通称カルタヘナ法)の使用規制対象品です。ご使用に際しては、規制に則し適切にお取り扱いください。最新の情報につきましては*印の有無に関わらずご注文の前にコスモ・バイオ(株)までお問合わせください。

■Ran ファミリー

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Ran, E70A	Human (Recombinant)	JNA	PR-215	50µg	¥ 36,000		凍
Ran, G19V/Q69L	Human (Recombinant)	JNA	PR-214	50µg	¥ 36,000		凍
Ran, Q69L	Human (Recombinant)	JNA	PR-213	50µg	¥ 36,000		凍
Ran protein (Human Q69L mutant, His)	Human	CYT	RN03-A	1×10µg	¥ 40,000		凍
Ran, T24N	Human (Recombinant)	JNA	PR-212	50µg	¥ 36,000		凍
Ran protein (Human T24N mutant, His)	Human	CYT	RN05-A	1×10µg	¥ 40,000		凍
Ran, wild type	Human (Recombinant)	JNA	PR-211	50µg	¥ 36,000		凍
Ran protein (Human wild type, His)	Human	CYT	RN01-A	1×10µg	¥ 40,000		凍

■Rho/Rac/Cdc42 ファミリー

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Cdc42 δ C G12VGST	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST-tag)	JNA	PR-300	50 μ g	¥ 36,000		凍
Cdc42 δ CGST	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST-tag)	JNA	PR-302	50 μ g	¥ 36,000		凍
Cdc42-GST Protein: dominant negative	Human (Recombinant)	CYT	C17G01-A	1 $\times$ 25 μ g	¥ 40,000		凍
Cdc42-GST Protein: Wild type	Human (Recombinant)	CYT	CDG01-C	8 $\times$ 25 μ g	¥ 50,000		凍
Cdc42-His Protein: constitutively active	Human (Recombinant)	CYT	C6101-A	1 $\times$ 10 μ g	¥ 40,000		冷
Cdc42-His Protein: Wild type	Human (Recombinant, bacterial expression)	CYT	CD01-A	1 $\times$ 100 μ g	¥ 42,000		凍
Rac1 GST Protein: dominant negative	Human (Recombinant)	CYT	R17G01-A	1 $\times$ 25 μ g	¥ 40,000		凍
Rac1 GST Protein: wild type	Human (Recombinant)	CYT	RCG01-C	8 $\times$ 25 μ g	¥ 50,000		凍
Rac1 His Protein: constitutively active	Human (Recombinant)	CYT	R6101-A	1 $\times$ 10 μ g	¥ 40,000		凍
Rac1 His Protein: wild type	Human (Recombinant, bacterial expression)	CYT	RC01-A	1 $\times$ 100 μ g	¥ 42,000		凍
Rac1 δ C	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-303	50 μ g	¥ 36,000		凍
RhoA	Human (Recombinant)	JNA	PR-106	50 μ g	¥ 36,000		凍
RhoA, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i> , GST-tag)	JNA	PR-363	50 μ g	¥ 36,000		凍
RhoA His Protein: constitutively active	Human (Recombinant)	CYT	R6301-A	1 $\times$ 10 μ g	¥ 42,000		凍
Rho A His Protein: wild type	Human (Recombinant, bacterial expression)	CYT	RH01-A	1 $\times$ 100 μ g	¥ 42,000		凍
RhoB, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-197	50 μ g	¥ 36,000		凍
RhoC, Recombinant	Human (Recombinant, <i>E.coli</i>)	JNA	PR-198	50 μ g	¥ 36,000		凍
RhoC His Protein: Wild type	Human (Recombinant)	CYT	RH03-A	1 $\times$ 100 μ g	¥ 42,000		凍

インヒビター

品名	由来(詳細)	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
GDP dissociation inhibitor protein GST fusion	(Recombinant)	CYT	GDI01-A	1 $\times$ 25 μ g	¥ 40,000		凍
Rac1 Inhibitor [NSC23766]	(Synthetic)	CBC	553502	5mg	¥ 52,000		冷
InSolution™ Rac1 Inhibitor		CBC	553508	5mg	¥ 64,000		凍
GST-Rho-GDI	Human (Recombinant)	ABP	ABP-BVC-10276	1 ml	¥ 92,000		冷
Rho-GDI α	Human (Recombinant)	CBC	555468	25 μ g	¥ 40,000		凍
Rho-Kinase Inhibitor	(Synthetic)	CBC	555550	1mg	¥ 41,400		冷
Rho-Kinase Inhibitor 2		CBC	555551	5mg	¥ 34,800		冷
Rho-Kinase Inhibitor 3, Rockout [3-(4-Pyridyl)-1H-indole]		CBC	555553	10mg	¥ 21,500		冷
InSolution™ Rho Kinase Inhibitor		CBC	555552	500 μ g	¥ 24,200		凍

イノシトールリン脂質の解析 Analysis of Inositolphospholipids

ホスホイノシドは細胞膜の一部分を構成する荷電性膜脂質群の総称で、細胞における数々の調節応答によって活性化されることが知られています。これら一連の物質は細胞における増殖やアポトーシス、形態形成および運動性を支配するシグナル伝達経路において2次メッセンジャーとして機能し、また膜やタンパク質の転送や細胞接着、そして細胞骨格の再構築などでも重要な役割を担っています。

増殖因子やホルモンによる刺激に応答して特定のホスホイノシドが産生されると細胞におけるシグナリングが活発化します。ホスホイノシドの濃度や分布は脂質修飾酵素、すなわちキナーゼやホスファターゼ、ホスホリパーゼ等によって触媒される相互交換反応によって規定されています(図1)。2次メッセンジャーとしてのホスホイノシドの活性はリン酸基の結合状態によって決定されるため、これら脂質類を修飾する酵素がシグナル伝達反応を正しく進めるための中核的な物質ということになります。炎症や糖尿病、動脈硬化や癌などの一連の疾患はこれらシグナル伝達経路の障害に起因することがよく知られています。

ホスホイノシドは細胞膜特定サイトにおけるエフェクタータンパク質への結合や、局在化されたシグナルの生成を通じて生物学的な効果を発揮します。受容体を介したシグナル伝達反応では、ホスホイノシドは膜状でサイト特異的なシグナル物質として機能し、エフェクタータンパク質と結合してこれらをプラズマ膜内表面の決められたサイトへと輸送するというメカニズムが知られています。すでに多くのホスホイノシド作用性タンパク質は同定されており、その100種以上は様々なホスホイノシドの種に対応した親和性と特異性を有するPleckstrin Homology (PH) ドメインという部位を含んでいます。それ以外のエフェクタータンパクのドメインとしてはホスホイノシドと相互作用する「FYVEドメイン」、特殊な「ジンクフィンガー」そして「Phox (PX) ドメイン」などが報告されています。プロテオミクス研究の発展にともない、新規の細胞-脂質相互作用の同定や、ホスホイノシドを仲介としたシグナリングによって規定されるタンパク質複合体の機能解析は細胞における分子レベルでのシグナル伝達経路のメカニズム解明において重要なテーマとなり得ます。

ホスホイノシドやイノシトールリン酸エステルはその役割の重要性(表1)にもかかわらず、活性や生物学的な作用に関する研究がこれまでほとんど進んでいませんでした。これは研究材料となる物質が入手困難であったため、脂質分野それ自体の研究に支障をきたしてしまったことが原因です。Echelon社ではこのニーズに応えるため、化学合成によるホスホイノシドおよびイノシトールリン酸エステル研究用の試薬を完全なライン・アップという形で取り揃えました。この中には天然物としては入手不可能なものも含まれています。またEchelon社はプロテオミクスや細胞生物学の分野に従事する研究者の需要を受けて、高度な熟練や専門知識を要せずに研究を行うためのツール各種、すなわち「ホスホイノシド-タンパク質相互作用」や「ホスホイノシド介在型シグナリング」に関連したキット類も供給しております。

ホスホイノシド	機能
PtdIns	PI3キナーゼ、PI4キナーゼ、PI5キナーゼの基質。
PI(3)P	小胞タンパク質の整列や液泡での輸送過程に関与。FYVEドメインと相互作用。
PI(4)P	タンパク質の分泌や小胞外皮形成に関与。
PI(5)P	PI3キナーゼ、PI4キナーゼの基質。
PI(3,4)P ₂	PI(3,4,5)P ₃ の代謝産物。PKB、PKC、血小板キナーゼを活性化し、細胞の生命維持を誘導。
PI(3,5)P ₂	小胞タンパク質の整列や液泡での輸送過程、ストレス応答に関与。
PI(4,5)P ₂	PI3キナーゼ、PKCの基質。PHドメインを含む膜タンパク類と相互作用。開口分泌(エキソサイトーシス)や細胞骨格形成のプロセスを仲介。ホスホリパーゼCによってリン酸基を脱離され、細胞内でのカルシウム放出機能を持つ(1,4,5)P ₃ を生成。
PI(3,4,5)P ₃	PHドメインを含む膜タンパク類と相互作用し、シグナル伝達に関与するタンパク複合体を形成。標的タンパクはAkt/PKB、PKC、PDK1、Btk、GRP-1など。細胞の生命維持や分化、遊走および形態形成の重要な経路を調節。

イノシトールリン酸エステル	機能
I(1,4,5)P ₃	細胞内で脳神経の機能に関わるカルシウムイオンの濃度を調整。
I(1,3,4)P ₃	カルシウムのイオンチャンネルのイオン電導度を調節。
I(3,4,5,6)P ₃	カルシウムのイオンチャンネルのイオン電導度を調節。

表1. イノシトールリン脂質の種類と生物学的役割

図1. ホスホイノシドの相互変換

Cosmo Bio would like to acknowledge and thank the Echelon Biosciences Inc. for providing Inositolphospholipids information presented here.

PIP Beads™ (PIPビーズ)

使用目的

PIPビーズはpull-down法によるホスホイノシド結合性タンパク質の同定を行うために作られた試薬です。可能な応用例としては細胞溶解液や*in vitro*で翻訳生成したペプチド混合液中に存在するPIP結合性タンパク質の分離などがあげられ、処理後にSDS-PAGEやさらに進んだ解析法に回されます。PIPビーズは10nmolのホスホイノシドが結合したアガロースビーズ1mlからなり、この量は数種のタンパク質の結合解析を行うのに十分です。また、どのPIPビーズにもネガティブコントロールビーズ(0.1ml)が付属されています。

【メーカー：ECL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
di-C6PtdIns	P-B001	1ml	¥ 121,000		☉
di-C6PI (4) P	P-B004A	1ml	¥ 121,000		☉
di-C6PI (5) P	P-B005A	1ml	¥ 121,000		☉
di-C6PI (3,4) P ₂	P-B034A	1ml	¥ 121,000		☉
di-C6PI (3,5) P ₂	P-B035A	1ml	¥ 121,000		☉
di-C6PI (4,5) P ₂	P-B045A	1ml	¥ 121,000		☉
di-C6PI (3,4,5) P ₃	P-B345A	1ml	¥ 121,000		☉
LBPA Beads	P-BLBPA	1ml	¥ 121,000		☉
Sphingomyelin Beads	P-B0SM	1ml	¥ 121,000		☉
Ceramide Beads	P-BCER	1ml	¥ 121,000		☉
PIP Beads Amide	P-B001A	1ml	¥ 121,000		☉
SphingoBead™ sample pack	P-B00SS	1パック 0.2ml	¥ 103,500 ¥ 18,500		☉☉

Cova PIP Plate™

迅速な脂質結合タンパク質の定量ができます！

使用目的

6つに濃度分けされたHy-PIPNsが2ウェル(100μl/ウェル)ずつ96ウェルプレートに含まれています(図1)。

各プレートはあらかじめブロックし、乾燥させてありますのでタンパク質をすくに加えることができます。

特長

ホスホイノシドと関連するタンパク質の選択性および感受性を決める固相結合アッセイにお使いいただけます。

図1 Cova PIP™ Array Plate

【メーカー：ECL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Array PIP Plate, Eight PIPs, Concentration Gradient	H-6500	1プレート	¥ 69,000		☉
Specificity PIP Plate, Eight PIPs, 10 pmol per well	H-6300	1プレート	¥ 69,000		☉
Screening Cova PIP Plate, 10 pmol PI (3) P per well	H-6200	1プレート	¥ 69,000		☉

PIP Strips™ & PIP Array™ (PIPストリップ及びPIPアレイ)

背景

PIPストリップとPIPアレイは1種あるいはそれ以上のホスホイノシドを固定化し、そこに解析対象となるタンパク質を重層添加することによって特異的結合を解析するシンプルな原理を持つ試薬系です。脂質と結合したタンパク質はそれに対する抗体またはビオチン、放射性ラベルによって検出・定量されます。脂質類はニトロセルロース膜に固定化されています。PIPストリップには8種のホスホイノシドとその他の生理活性脂質がそれぞれ1スポットごとに100pmol固定化されており、またPIPアレイには濃度勾配をかけた脂質各種8種の脂質群が100~1.56pmolのレンジで固定化されています。

使用目的

PIPストリップは、2cm×6cmのニトロセルロース膜上に15種類のリン脂質が100pmolとブランクがスポットされています。

PIPアレイは4cm×4cmのニトロセルロース膜に濃度勾配(100~1.56pmol)をかけた8種類のリン脂質がスポットされています。目的タンパク質とリン脂質との結合量の違いを見ることができます。

PIP-Strips and PIP-Arrays

PIP-strips™ (left) and PIP-arrays™ (right) from Echelon Research Laboratories

【メーカー：ECL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PIP-ストリップ PIP-Strips™	P-6001	2ストリップ 10ストリップ	¥ 28,000 ¥ 86,000		☉ ☉☉
PIP-アレイ PIP-Array™	P-6100	5シート	¥ 110,000		☉☉

PIP MicroStrips™ (PIPマイクロストリップ)

背景

PIPストリップは、2cm×6cmのニトロセルロース膜上に15種類のリン脂質が100pmolとブランクがスポットされていますが、PIPマイクロストリップはこれよりも小さいスケールで、1cm×2cmのニトロセルロース膜に20pmolスポットされています。どちらも、目的のタンパク質がどのリン脂質に結合するかを見ることができます。

使用目的

より小さいスケール(1×2cm)でお使いいただくためにデザインされています。0.5μg以下のタンパク質で標識することができます。なお、固定化された脂質量は20pmol/スポットです。

【メーカー：ECL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PIPマイクロストリップ PIP Microstrips™	P-M600	2ストリップ 10ストリップ	¥ 30,500 ¥ 93,000		☉ ☉

PIP Grip™ Pellets (PIPグリッパペレット)

使用目的

PIPストリップと一緒にご利用いただくコントロール試薬として、特定のリン脂質に特異的なタンパク質が含まれます。各ペレットは簡単に水やバッファーで再溶解でき、一つのPIPストリップの使用に十分なタンパク質量です。GST融合タンパク質ですので抗GST抗体を使用した検出もできます。

【メーカー：ECL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
MultiPIP Grip™	G-1100	5パック	¥ 38,500		☉
PI (4,5) P2 Grip™, GST tag	G-4501	2.5μg	¥ 9,000		☉

Sphingo Array™ & Sphingo Strip™ (スフィンゴアレイとスフィンゴストリップ)

使用目的

スフィンゴストリップは、生物活性のある15種類の脂質とブランクが、ニトロセルロース膜上に100pmolずつスポットされているので、タンパク質の結合アッセイなどに使用できます。

SphingoStrips™ Product No.S-6000

Sphingosine	○ ○	Monosialoganglioside-GM1
Sphingosine-1-phosphate(S1P)	○ ○ ○	Disialoganglioside-GD3
Phytosphingosine	○ ○ ○	Sulfatide
Ceramide	○ ○ ○	Psychosine
Sphingomyelin	○ ○ ○	Cholesterol
Sphingosylphosphocholine	○ ○ ○	Lyso-PC
Lysophosphatidic Acid(LPA)	○ ○ ○	PC
Myriosine	○ ○ ○	Solvent Blank

【メーカー：ECL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
スフィンゴ・ストリップス Sphingo Strips	S-6000	2ストリップ 10ストリップ	¥ 26,500 ¥ 82,000		☉ ☉
Sphingo Array™	S-6001	2パック 5パック	¥ 62,500 ¥ 110,000		☉ ☉

Membrane Lipid Array™ & Membrane Lipid Strip™ (膜脂質アレイと膜脂質ストリップ)

使用目的

膜脂質ストリップは、2×6cmの疎水性メンブレンに、溶媒なしのコントロールと15種類の脂質を予めスポットしてあります。また膜脂質アレイは、4×5cmの疎水性メンブレンに、細胞膜上で同定された脂質を8つの濃度勾配で予めスポットしてあります。膜脂質ストリップおよびアレイは、ターゲットのタンパク質が膜上に存在する1つ以上の脂質を通して細胞膜とどのように相互作用するかを解析する便利なツールです。

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
膜脂質ストリップ Membrane Lipid Strips™	P-6002	2ストリップ	¥ 29,000		☉
膜脂質アレイ Membrane Lipid Array™	P-6003	2シート 5シート	¥ 62,500 ¥ 110,000		☉ ☉

【メーカー：ECL】

PIP₃ Mass Strip & ELISA

細胞内のPIP₃の定量に最適！

使用目的

Echelon社のPIP₃ Mass ELISA Kit™ は、PIP₃を迅速かつ簡単に定量できるように設計されています。PI 3-kinases (PI3-K) タイプ1によって生成されたPI (3,4,5) P₃由来のPI (3,4,5) P₃は、様々な細胞のシグナル伝達で重要な役割を担っています。通常、PI3-Kキナーゼ活性を測定する研究では、ホスホイノシチリドリン酸のリン酸化反応は放射性物質である³²Pを用い、放射性物質で抽出し、薄層クロマトグラフィー (TLC) を用いて分離します。Echelon社の分析法では、放射活物質・有機溶媒・TLCを用いず、一般的なELISA法を用いて、細胞から抽出したPI (3,4,5) P₃の量を測ることで、PI3-K活性を測定することができます。

この分析は、生成したPI (3,4,5) P₃の量に反比例するシグナルをもつ競合法です。

特長

- 非放射性で安心・簡単なプロトコルで迅速に解析が行えます。
- PI (3,4,5) P₃の量に反比例するシグナルを持つ競合的ELISA法です。
- 1 pmol のPIP₃、あるいは3×10⁶ cells以上で検出可能です。

構成内容

Mass ELISA

- インキュベーションプレート：96ウェル ポリプロピレン U字プレート

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PIP ₃ Mass ELISA	K-2500	1キット	¥ 139,000		☉凍
PIP ₃ Mass Strip	K-2400	1キット	¥ 56,500		☉
PI (4,5) P ₂ Mass ELISA	K-3800	1キット	¥ 139,000		☉凍
PI (3,4,5) P ₂ Mass ELISA	K-4500	1キット	¥ 139,000		☉凍

【メーカー：ECL】

Membrane Lipid Strips™ Product No. P-6002

Membrane Lipid Array™ Product No. P-6003

- PI (3,4,5) P₃スタンダード
- PI (3,4,5) P₃ディテクター
- ディテクションプレート：PI (3,4,5) P₃をコーティングした透明 平底96ウェル プレート

- 二次ディテクター
- TMB試薬

Mass Strip

- PI (3,4,5) P₃ ストリップ
- PI (3,4,5) P₃ ディテクター
- 二次ディテクター

測定方法

【メーカー：ECL】

シャトルPIPキャリアと標識キャリア

背景

ホスホイノシチド類は真核細胞を構成するリン脂質の中でもごくマイナーな分類のひとつに過ぎませんが、機能面ではきわめて多くの物質制御やシグナル伝達の過程において重要な役割を占めています。このうち最もよく知られているのはホスホリパーゼC介在型の2次メッセンジャー産生反応で、ここではホスファチジルイノシトール(4,5)-2リン酸(PtdIns(4,5)P₂)が代謝されてホスファチジルイノシトール(3,4,5)3リン酸(PtdIns(3,4,5)P₃)とジアシルグリセロール(DAG)が生じることが知られています。これらの分子作用は瞬間的かつ隔離的に進行するため、これを完全に特徴づけるためにはホスホイノシチドの局在箇所の変化を視覚的にモニターすることが必須となります。生物学的活性を有する蛍光性ホスホイノシチドはシャトルPIPキャリアと共存することによって生細胞へと運搬され、生きた細胞での輸送過程を視覚化するための様々な研究材料を提供します。他の方法、たとえばプロテインキナーゼCの基質部位に相当するPleckstrin相同性ドメインのGFPキメラを用いた解析などと比較すると、複数の可溶性イノシトールリン酸エステルを並行して検出できるためさほど複雑なものではなく、結果のパラツキも少なくなっています。

シャトルPIPキャリアは高分子を基調とした分子構造を持ち、基本的には細胞内におけるホスファチジルイノシトール2リン酸やホスファチジルイノシトール3リン酸の生細胞への取り込みを助長し、電気的に中性な複合体を形成します。シャトルPIPとホスホイノシチドの複合体の取り込み反応はわずか数分のインキ

ュベーションで完了し、哺乳動物やイースト植物などのセルタイプで効果を発揮します。シャトルPIPキャリア1と2はホスホイノシチド3リン酸エステルやホスホイノシチド2リン酸エステルを運搬するのに有効ですが、ホスファチジルイノシトールやそのモノリン酸エステル誘導体の運搬には寄与しません。非標識、あるいは蛍光標識されたシャトルPIPキャリアが商品化されており、特に標識品はキャリアと被運搬物であるホスホイノシチドがどこへ運ばれたかを分別的に視覚化するのに役立ちます。

NIH 3T3 cells labeled with the green-fluorescent phosphatidylinositol analog BODIPY® FL C5, C6-PtdIns(4,5) P₂, delivered as an electrostatically neutral complex with polybasic Shuttle-PIP™ carrier-1. Image contributed by Paul Nielsen, Echelon Research Laboratories Inc., Salt Lake City, Utah.

【メーカー：ECL】

品名	構成内容	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
非標識キャリア1 Unlabeled Carrier 1		P-9C1	1キット (2×50nmol)	¥ 26,500		凍
オレゴングリーン標識キャリア1 Oregon Green labeled Carrier 1		P-9C1G	1キット (100nmol)	¥ 51,500		凍
TMR標識キャリア1 TMR labeled Carrier 1		P-9C1R	1キット (20nmol)	¥ 51,500		凍
非標識キャリア2 Unlabeled Carrier 2		P-9C2	1キット (2×50nmol)	¥ 26,500		凍
TMR標識キャリア2 TMR labeled Carrier 2		P-9C2R	1キット (2×10nmol)	¥ 51,500		凍
非蛍光キャリアパック Nonfluorescent carrier pack	・ Neomycin B Sulfate ・ Histone H1 ・ Carrier 3	P-9C00	1キット (各2×50nmol)	¥ 39,000		凍
蛍光キャリアパック Fluorescent carrier pack	・ TMR標識 Neomycin ・ TMR標識 Histone H1	P-9CFL	1キット (各2×50nmol)	¥ 90,500		凍

Shuttle PIPs™ (シャトルPIPキット)

使用目的

細胞内ホスホイノシチドの可視化や、部位の特定の研究のためにデザインされたキットです。蛍光標識及び非標識のホスホイノシチドと、蛍光標識及び非標識のキャリアーを含みます。NBDもしくはBODIPY® FLで標識したホスホイノシチドとテトラメチルローダミン(TMR)標識キャリアーにより、2色化に対応します。

【メーカー：ECL】

品名	構成内容	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Introductory Shuttle-PIPs™ Kit	・ PtdIns(3)P (TMR標識あり/なし) ・ 蛍光標識NBD PtdIns(3)P (TMR標識あり/なし) ・ キャリアー-3 (TMR標識あり/なし)	P-9003	1キット	¥97,500		凍
Introductory Shuttle-PIPs™ Kit	・ PtdIns(4)P (TMR標識あり/なし) ・ 蛍光標識NBD PtdIns(4)P (TMR標識あり/なし) ・ キャリアー-3 (TMR標識あり/なし)	P-9004	1キット	¥97,500		凍
Introductory Shuttle-PIPs™ Kit	・ PtdIns(5)P (TMR標識あり/なし) ・ 蛍光標識NBD PtdIns(5)P (TMR標識あり/なし) ・ キャリアー-3 (TMR標識あり/なし)	P-9005	1キット	¥97,500		凍
Introductory Shuttle-PIPs™ Kit	・ PtdIns(3,4)P ₂ (TMR標識あり/なし) ・ 蛍光標識NBD PtdIns(3,4)P ₂ (TMR標識あり/なし) ・ キャリアー分子2タイプ (TMR標識あり/なし)	P-9034	1キット	¥97,500		凍
Shuttle-PIPs™ Kit, PtdIns(3,5)P ₂	・ PtdIns(3,5)P ₂ diC ・ 蛍光標識NBD PtdIns(3,5)P ₂ C6,C16 ・ Neomycin Sulfate (TMR標識あり/なし) ・ Histone H1 (TMR標識あり/なし) ・ Carrier 3	P-9035	1キット	¥97,500		凍
シャトルPIPs Shuttle-PIPs™	・ PtdIns(3,4,5)P ₂ ・ 蛍光標識NBD PtdIns(3,4,5)P ₂ ・ 2タイプのキャリアー ・ TMR標識キャリアー	P-9039	1キット	¥97,500		凍
Introductory Shuttle-PIPs™ Kit	・ PtdIns(4,5)P ₂ (TMR標識あり/なし) ・ 蛍光標識NBD PtdIns(4,5)P ₂ (TMR標識あり/なし) ・ キャリアー分子2タイプ (TMR標識あり/なし)	P-9045	1キット	¥97,500		凍

AlphaScreen® PI3キナーゼ 活性アッセイキット(発光法)

AlphaScreen® 法を対象としたアッセイキット!

背景

AlphaScreen® 法はDonor beadsの近接によって活性化されたAcceptor beadsによる520-620nmの光の放出に基づいています。Biotinylated-PI (3,4,5)P₃とPI(3,4,5)P₃結合タンパク質の相互作用はAcceptorおよびDonor beadsの両方に化学反応のカスケードを作らせ、AlphaScreenシグナルを増幅するように導きます。増幅したシグナルは、一重項状態酸素(1O₂)分子が生成され、Acceptor beadsを励起するように拡散する時、680nmにおいてDonor beadsの励起において検出されます。

PI(3,4,5)P₃がPI3-KinaseによるPI(4,5)P₂のリン酸化を介して生成される時、酵素反応生成物はPI(3,4,5)P₃ detector proteinの相互作用のためのbiotinylated PI(3,4,5)P₃と競合します。この相互作用の欠乏におけるDonorおよびAcceptor beadsの近接は、酵素活性と反比例する発光シグナルを減少させます。

使用目的

PI3キナーゼ活性を競合法で測定します。精製酵素、あるいは細胞サンプルから免疫沈降で得られた分離物のいずれでも測定が可能です。

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PI3キナーゼ活性アッセイキット(発光法) PI3 Kinase Activity Assay (Luminescent)	K-1300	1キット	¥ 80,500		☉

【メーカー：ECL】

構成内容

- PI(4,5)P₂ Substrate Solution (K-1301)
- PI(3,4,5)P₃ Standard Solution (K-1302)
- PI(3,4,5)P₃ Detector Pellet (K-1303)
- Biotinylated PI(3,4,5)P₃ Solution (K-1304)
- ※AlphaScreen® GST Detection Kit (PerkinElmer Life Sciences, #6760603C, M, or R)が別途必要です。

TRue-FRET™ PI3K 活性測定キット

TR-FRETアッセイでPI3キナーゼの活性を測定

使用目的

エシエン社のTRueFERET™ PI3-K活性測定キットは、時間分解蛍光共鳴エネルギー転移(TR-FRET)アッセイをベースにしています。本キットに含まれるPI(3,4,5)P₃を用いてPI3-K活性を測定します。PI3-Kの酵素反応が進めば、PI(3,4,5)P₃レベルが増加し、蛍光プローブがディテクターに結合します。酵素活性とシグナルは逆相関のため、TRueFRET™のシグナルが低いとPI3-K活性が高いことを示します。

構成内容

- PI(3,4,5)P₃ 検出剤(品番：K-2701)
- プローブ(品番：K-2702)
- PI(4,5)PP₂ 基質(品番：K-2703)
- PI(3,4,5)P₃ スタンダード(品番：K-2704)
- 384ウェルプレート(ブラック)
- ※検出バッファー、PI3-K酵素、反応バッファー、マイクロプレートリーダーは含まれていません。

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
TRueFRET™ PI3-Kinase TR-FRET Assay	K-2700	1キット	¥ 139,000		☉

【メーカー：ECL】

測定方法

エシエン社のTRueFERET™ アッセイは、時間分解蛍光共鳴エネルギー転移(TR-FRET)をベースにしています。ドナーの蛍光分子がアクセプターの蛍光分子の近づくドナーの励起エネルギーがアクセプターに転移します。TR-FRETアッセイは他の蛍光分子と比べライフタイムの長いランタニドキレートドナーとして用いています。このランタニド色素のユニークな特性は、自己蛍光や光散乱などの問題を解決します。

図1 エシエン社TRue-FRET™ PI3K 活性測定キットの検出原理。PI(3,4,5)P₃レベルはPI3-K酵素反応が進むにつれて増加する。PI(3,4,5)P₃と検出タンパク質に結合するプローブが競合する。酵素活性とシグナルは逆相関。

ELISAキット

品名	適用種	測定範囲	特記事項	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
	サンプル	感度						
PI-3 Kinase			競合法	K-1000	96ウェル	¥ 111,000		☉

【メーカー：ECL】

PI3キナーゼ蛍光分極キット

使用目的

蛍光PI(3,4,5)P₃プローブの分極(mP)の程度がPI3キナーゼ活性により産生するPI(3,4,5)P₃量に比例していることを利用した競合アッセイです。

構成内容

- PI(4,5)P₂ Substrate

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PI3キナーゼ蛍光分極キット PI3 Kinase Fluorescence Polarization Kit	K-1100	1キット	¥ 139,000		☉

【メーカー：ECL】

- PI(3,4,5)P₃ Standard
- PI(3,4,5)P₃ Detector
- Red Fluorescent Probe
- Probe Diluent
- PI(3,4,5)P₃ Detector Diluent
- 384-well flat-bottomed black polyurethane plate(non-binding surface)

PI3キナーゼ

リン脂質シグナリング研究に！

背景

ホスホイノシチド3キナーゼ (PI3Ks) は、ホスファチジルイノシトール (Pis) の3'-OH基をリン酸化して脂質のセカンドメッセンジャーを生じ、細胞の成長・分化・生存・増殖・遊走及び代謝等、多数の生物学的プロセスを制御しています。PI3Kファミリーは、その構造の相同性と基質特異性から、3つのクラス、I、II及びIIIに分類されます。

ヒトのPI3Kファミリーのうち、クラスIに属する全てのものは、触媒サブユニット (分子量：約110kDa) 及び非触媒サブユニット (分子量：50、55、85もしくは101kDa) からなるヘテロダイマーです。ホスファチジルイノシトール (PI)、ホスファチジルイノシトール-4-モノリン酸 (PIP) 及びホスファチジルイノシトール-4、5-ニリン酸 (PIP2) を *in vivo* でリン酸化することが知られています。

by JENA BIOSCIENCE GMBH

リコンビナントプロテイン

【メーカー：JNA】

品名	由来 (詳細)	活性*1	純度	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
p85 α	Bovine (Leishmania tarentolae)		≥95%	PR-342	20 μ g	¥ 43,000		凍
PI 3-Kinase α	Bovine (Sf9 insect cells)	~1nmol/mg/min	≥90%	PR-341*2	10 μ g	¥ 30,000		凍
PI 3-Kinase α His-Tag	Human (Sf9 insect cells)	8,500units/mg	>90%	PR-335*2	10 μ g	¥ 30,000		凍
PI 3-Kinase α GST-Tag	Bovine (Sf9 insect cells)	~3nmol/mg/min	>90%	PR-940*2	10 μ g	¥ 30,000		凍
PI 3-Kinase α K832R GST-Tag	Bovine (Sf9 insect cells)	catalytically inactive mutant	>95%	PR-941*2	10 μ g	¥ 30,000		凍
PI 3-Kinase β His-Tag	Human (Sf9 insect cells)	~3nmol/mg/min	≥90%	PR-344*2	10 μ g	¥ 30,000		凍
PI 3-Kinase γ His-Tag	Human (Sf9 insect cells)	~4.5nmol/mg/min	≥95%	PR-343*2	10 μ g	¥ 30,000		凍
PI 3-Kinase γ D946A GST-Tag	Human (Sf9 insect cells)	catalytically inactive mutant	≥95%	PR-346*2	10 μ g	¥ 30,000		凍
PI 3-Kinase δ GST-Tag	Human (Sf9 insect cells)	~3nmol/mg/min	≥95%	PR-345*2	10 μ g	¥ 41,000		凍

*1 活性測定には、基質としてホスファチジルイノシトールを使用しました。

*2 印の商品は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(通称カルタヘナ法)の使用規制対象品です。ご使用に際しては、規制に則し適切にお取り扱いください。ただし、最新の情報につきましては、*印の有無に関わらずご注文の前にコスモ・バイオ (株) までお問い合わせください。

基質

【メーカー：JNA】

品名	由来 (詳細)	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PIP2	Sythetic	LI010	100 μ g	¥ 25,000		凍
PIP	Sythetic	LI009	100 μ g	¥ 25,000		凍
PI	Sythetic	LI008	100 μ g	¥ 25,000		凍
PI	Bovine	LI001	5mg	¥ 15,000		凍
PI3K Lipid Kinase Substrate Mix 2, (PIP2, PE, PS, PC, and SM)	Sythetic	LI012	0.1mg	¥ 38,000		凍
PI3K Lipid Kinase Substrate Mix 1, (PI, PE, PS, PC, and SM)	Sythetic	LI011	1mg	¥ 38,000		凍
PIP2	Porcine	LI003	0.5mg	¥ 28,000		凍
PIP	Porcine	LI002	1mg	¥ 28,000		凍

インヒビター

品名	詳細	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Wortmannin	PI3-Kinase Inhibitor	JNA	INH-001	1mg	¥ 13,000		凍
Staurosporine	Protein Kinase Inhibitor	JNA	INH-005	50 μ g	¥ 13,000		凍
PI 3-K α Inhibitor 1	—	ECL	B-0303	1mg	¥ 19,000		凍
PI 3-K α Inhibitor 2	—	ECL	B-0304	1mg	¥ 12,000		凍
PI 3-K α Inhibitor 4	—	CBC	528111	5mg	¥ 46,800		冷
PI 3-K α Inhibitor 8	—	CBC	528116	5mg	¥ 46,800		冷
PI 3-K β Inhibitor 6	—	CBC	528113	1mg	¥ 62,000		冷
PI 3-K γ / CK2 Inhibitor	—	CBC	528112	5mg	¥ 35,400		冷
PI 3-K γ Inhibitor	—	CBC	528106	5mg	¥ 38,700		冷
PI 3-K γ Inhibitor 1	—	ECL	B-0301	1mg	¥ 10,500		冷凍
PI 3-K γ Inhibitor 7	—	CBC	528114	5mg	¥ 29,900		冷

ホスファチジルコリンアッセイキット

高感度なホスファチジルコリン定量キットです！

使用目的

ホスファチジルコリンを酵素反応により定量します。本アッセイにおいて、ホスファチジルコリンはリン酸化リパーゼDによって切断され、コリンとホスファチジン酸を生じます。コリンは、コリンオキシダーゼにより酸化され、ベタインと過酸化水素を生成します。過酸化水素と過酸化酵素の存在下で、DAOSと4-アミノアンチピリンは青色色素を形成し、595nm波長で吸光度を測定します。

特長

- 測定範囲：100~600 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- 反応時間：4時間

構成内容

- インキュベーションプレート
- プレートカバー
- 5×ホスファチジルコリン酵素ミックス(2×1.2 ml)
(リン酸化リパーゼD、コリンオキシダーゼ、4-アミノアンチピリン)
- ホスファチジルコリン標準品(1.0 mg)
- 5 mg/ml 塩化コリン(100 ml)
- DAOS(N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfoethyl)-3,5-dimethoxyaniline)(150 ml)
- ホスファチジルコリン反応バッファー(2×15 ml)

図1 アッセイ原理

【メーカー：ECL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Phosphatidylcholine Assay Kit	K-31-PC	1キット (120アッセイ*)	¥67,500		凍

*1 アッセイ当りの反応量が120 μl の場合、約120アッセイ分の試薬が含まれています。

ホスファチジルコリン/スフィンゴミエリンアッセイキット

高感度なホスファチジルコリンおよびスフィンゴミエリン定量キットです！

使用目的

ホスファチジルコリンおよびスフィンゴミエリンを酵素反応により定量します。ホスファチジルコリンは、上記のキットと同様の酵素反応により定量します。スフィンゴミエリンはスフィンゴミエリナーゼにより、ホスファチジルコリンとn-アシルスフィンゴシンへと分解されます。その後、アルカリホスファターゼはホスファチジルコリンを加水分解し、コリンを生成します(図1)。

特長

- 測定範囲：17~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- 反応時間：4時間

構成内容

- インキュベーションプレート
- プレートカバー
- 5×スフィンゴミエリン酵素ミックス(1.2 ml)
(スフィンゴミエリナーゼ、アルカリホスファターゼ、コリンオキシダーゼ、過酸化酵素、4-アミノアンチピリン)

- 5×ホスファチジルコリン酵素ミックス(1.2 ml)
(リン酸化リパーゼD、コリンオキシダーゼ、4-アミノアンチピリン)
- 5 mg/ml スフィンゴミエリン標準品(150 ml)
- 5 mg/ml ホスファチジルコリン標準品(150 ml)
- 5 mg/ml 塩化コリン(100 ml)
- DAOS(N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfoethyl)-3,5-dimethoxyaniline)(150 ml)
- スフィンゴミエリン反応バッファー(15 ml)
- ホスファチジルコリン反応バッファー(15 ml)

図1 アッセイ原理

【メーカー：ECL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Phosphatidylcholine/Sphingomyelin Assay Kit	K-3100	1キット (120アッセイ*)	ご照会		凍

*1 アッセイ当りの反応量が120 μl の場合、約120アッセイ分(ホスファチジルコリン：60アッセイスフィンゴミエリン：60アッセイ)の試薬が含まれています。

スフィンゴミエリンアッセイ

使用目的

SphingomyelinをSphingomyelinase、Alkaline Phosphatase、Choline Oxidase処理によりDAOSまで分解し、Peroxidaseにより比色反応を起こさせ、吸光度を測定します。

測定波長：595nm

構成内容

- Incubation Plate
- Microtiter plate cover
- 5X Sphingomyelin Enzyme Mix (2X1.2 ml) Contains Sphingomyelinase, Alkaline Phosphatase, Choline Oxidase, Peroxidase, and 4-Aminoantipyrine.
- Sphingomyelin Standard 5 mg/ml in ethanol (150 ml)
- Choline Chloride 5 mg/ml (100 ml)
- DAOS(N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfoethyl)-3,5-dimethoxyaniline)(150 ml)
- Sphingomyelin (SM) Reaction Buffer (2X15 ml)

【メーカー：ECL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Sphingomyelin Assay Kit	K-31SM	1キット	¥67,500		凍

ホスホイノシチド (PI) 試薬

背景

すべてのホスホイノシチドおよびイノシトールリン酸エステル合成品は自然発生的に生じたキラル化合物を前駆体としています。イノシトールの先端部にあたる官能基はFerrier反応によって設計された α -D-グルコピラノシドに由来しており、ジアシルグリセリル誘導体は(+)-イソプロピリデングリセロールが出発物質となっています。鎖長の異なる3種の脂肪酸、すなわちdiC16、diC8、そしてdiC4も揃っています。長鎖型のホスホイノシチド、すなわちdiC16を脂肪酸

として含む試薬は水系の溶媒に極めて溶けにくく、完全に溶解させるためにはポルテックスによる混合や水浴中での超音波処理、加熱や有機溶媒の添加などの工夫が必要になります。diC8ならびにdiC4を含む試薬類は1C/Fの割合で溶解します。イノシトールリン酸エステルの化学合成品は光学特異的に選別されたメチル化 α -D-グルコピラノシドより作られています。こうした化合物の多くはホスホイノシチドの先端を形成する官能基部位に相当するものです。

【メーカー：ECL】

品名	構造	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PtdIns [n=4]	C ₂₅ H ₄₆ NaO ₁₃ P	P-0008	0.5mg	¥ 56,500		凍
PtdIns [n=14]	C ₄₁ H ₇₈ NaO ₁₃ P	P-0016	0.5mg	¥ 56,500		凍
PtdIns (3) P [n=6]	C ₂₅ H ₄₅ Na ₃ O ₁₆ P ₂	P-3008	0.5mg	¥ 74,000		凍
PtdIns (3) P [n=14]	C ₄₁ H ₇₇ Na ₃ O ₁₆ P ₂	P-3016	0.5mg	¥ 56,500		凍
PtdIns (4) P [n=6]	C ₂₅ H ₄₅ Na ₃ O ₁₆ P ₂	P-4008	0.5mg	¥ 56,500		凍
PtdIns (4) P [n=14]	C ₄₁ H ₇₇ Na ₃ O ₁₆ P ₂	P-4016	0.5mg	¥ 56,500		凍
PtdIns (5) P [n=6]	C ₂₅ H ₄₅ Na ₃ O ₁₆ P ₂	P-5008	0.5mg	¥ 47,000		凍
PtdIns (5) P [n=14]	C ₄₁ H ₇₇ Na ₃ O ₁₆ P ₂	P-5016	0.5mg	¥ 47,000		凍
PtdIns (3, 4) P ₂ [n=6]	C ₂₅ H ₄₄ Na ₅ O ₁₉ P ₃	P-3408	0.5mg	¥ 56,500		凍
PtdIns (3, 4) P ₂ [n=14]	C ₄₁ H ₇₆ Na ₅ O ₁₉ P ₃	P-3416	0.5mg	¥ 56,500		凍
PtdIns (4, 5) P ₂ [n=6]	C ₂₅ H ₄₄ Na ₅ O ₁₉ P ₃	P-4508	0.5mg	¥ 74,000		凍
PtdIns (4, 5) P ₂ [n=14]	C ₄₁ H ₇₆ Na ₅ O ₁₉ P ₃	P-4516	0.5mg	¥ 56,500		凍
PtdIns (3, 5) P ₂ [n=6]	C ₂₅ H ₄₄ Na ₅ O ₁₉ P ₃	P-3508	0.5mg	¥ 56,500		凍
PtdIns (3, 5) P ₂ [n=14]	C ₄₁ H ₇₆ Na ₅ O ₁₉ P ₃	P-3516	0.5mg	¥ 56,500		凍
PtdIns (3, 4, 5) [P ₃ n=6]	C ₂₅ H ₄₃ Na ₇ O ₂₂ P ₄	P-3908	0.5mg	¥ 56,500		凍
PtdIns (3, 4, 5) [P ₃ n=14]	C ₄₁ H ₇₅ Na ₇ O ₂₂ P ₄	P-3916	0.5mg	¥ 56,500		凍
PtdIns (3, 4) P ₂	C ₄₁ H ₇₆ Na ₅ O ₁₉ P ₃	P-3416A	100 μ g 500 μ g 1mg	¥ 16,000 ¥ 56,500 ¥ 101,000		凍 凍 凍
PtdIns (4) P	C ₁₇ H ₂₉ Na ₃ O ₁₆ P ₂	P-4004	0.1mg 0.5mg 1mg	¥ 24,500 ¥ 74,000 ¥ 128,000		凍 凍 凍

【メーカー：ECL】

品名	構造	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PtdIns (4, 5) P ₂	C ₁₇ H ₂₈ Na ₅ O ₁₉ P ₃	P-4504	100μg	¥ 24,500		冷
			0.5mg	¥ 74,000		凍
			1mg	¥ 128,000		凍
PtdIns (5) P	C ₁₇ H ₂₈ Na ₃ O ₁₆ P ₂	P-5004	0.1mg	¥ 24,500		冷
			0.5mg	¥ 74,000		凍
			1mg	¥ 128,000		凍

蛍光ホスホイノシチド試薬

背景

Echelon社では蛍光物質を標識したホスファチジルイノシトール (PtdIns) 関連試薬を供給しており、PtdIns基本形の他に3位、4位、5位の特定部位がそれぞれリン酸化された合計7種のアナログについても対応可能です。すべての蛍光物質導入品はPtdInsのsn-1-O-アシル鎖を修飾して得られたもので、標識物質としてはBODIPY-FL、BODIPY-TMR、BODIPY-TRそしてNBRがあります。ラベル化に際しては蛍光色素とイノシトール環の立体的距離をできるだけ離し、確実に生物活性を保持できるよう工夫が凝らしてあります。ホスホイノシチドについてはBODIPY標識体がdiC8、NBD標識体がdiC6、diC8およびdiC16のフォームで供給可能です。ホスホイノシチドのアナログ各種については、それぞれが4種の異なる蛍光物質で標識することができ、これらを「蛍光性シャトルPIP」のキャリアや蛍光性カルシウムイオンインジケーター、GFPキメラなどと組み合わせることによって多色系検出に応用できます。

*BODIPY®はInvitrogen Corporationの登録商標です。

BODIPY® FL Probes (505/513), C6

BODIPY® FL Probes (505/513), C16

蛍光標識

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
BODIPY® -FL PtdIns (3,4,5) P ₃	C-39F6	50μg	¥ 80,500		冷
BODIPY® -FL PtdIns (4,5) P ₂	C-45F6	50μg	¥ 80,500		凍
BODIPY® -FL PtdIns (3,5) P ₂	C-35F6	50μg	¥ 80,500		凍
BODIPY® -FL PtdIns (3,4) P ₂	C-34F6	50μg	¥ 80,500		凍
BODIPY® -FL PtdIns (5) P	C-05F6	50μg	¥ 80,500		凍
BODIPY® -FL PtdIns (4) P	C-04F6	50μg	¥ 80,500		凍
BODIPY® -FL PtdIns (3) P	C-03F6	50μg	¥ 80,500		凍
BODIPY® -FL PtdIns	C-00F6	50μg	¥ 80,500		冷
BODIPY® -TMR PtdIns (3,4,5) P ₃	C-39M6	50μg	¥ 80,500		冷
BODIPY® -TMR PtdIns (4,5) P ₂	C-45M6	50μg	¥ 80,500		凍
BODIPY® -TMR PtdIns (3,5) P ₂	C-35M6	50μg	¥ 80,500		凍
BODIPY® -TMR PtdIns (3,4) P ₂	C-34M6	50μg	¥ 80,500		凍
BODIPY® -TMR PtdIns (5) P	C-05M6	50μg	¥ 80,500		凍
BODIPY® -TMR PtdIns (4) P	C-04M6	50μg	¥ 80,500		凍
BODIPY® -TMR PtdIns (3) P	C-03M6	50μg	¥ 80,500		凍
BODIPY® -TMR PtdIns	C-00M6	50μg	¥ 80,500		冷
BODIPY® -TR PtdIns	C-00R6	50μg	¥ 80,500		冷
NBD6-PtdIns (3,4,5) P ₃	C-39N6	100μg	¥ 139,000		冷
NBD6-PtdIns (4,5) P ₂	C-45N6	50μg	¥ 73,000		凍
NBD6-PtdIns (3,5) P ₂	C-35N6	50μg	¥ 73,000		凍
NBD6-PtdIns (3,4) P ₂	C-34N6	50μg	¥ 73,000		凍
NBD6-PtdIns (5) P	C-05N6	50μg	¥ 73,000		凍

BODIPY® TR Probes (589/617)

BODIPY® TMR Probes (542/574)

C6-NBD Probes (465/535)

C16-NBD Probes (465/535)

【メーカー：ECL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
NBD6-PtdIns (4) P	C-04N6	50μg	¥ 73,000		凍
NBD6-PtdIns (3) P	C-03N6	50μg	¥ 73,000		凍
NBD6-PtdIns	C-00N6	50μg	¥ 69,500		凍
NBD16-PtdIns (3,4,5) P ₃	C-39N16	50μg	¥ 73,000		凍
NBD16-PtdIns (4,5) P ₂	C-45N16	50μg	¥ 73,000		凍
NBD16-PtdIns (3,5) P ₂	C-35N16	50μg	¥ 73,000		凍
NBD16-PtdIns (3,4) P ₂	C-34N16	50μg	¥ 73,000		冷
NBD16-PtdIns (5) P	C-05N16	50μg	¥ 73,000		凍
NBD16-PtdIns (4) P	C-04N16	50μg	¥ 73,000		凍
NBD16-PtdIns (3) P	C-03N16	50μg	¥ 73,000		凍
NBD16-PtdIns	C-00N16	50μg	¥ 73,000		冷
BODIPY® FL P (3,4,5) P ₃ , C16	C-39F16A	50μg	¥ 78,500		凍
		100μg	¥ 134,500		
GloPIPs BODIPY® TMR-PtdIns (3,5) P ₂	C-35M6A	50μg	¥ 80,500		
		100μg	¥ 139,000		
GloPIPs of BODIPY® TMR-PtdIns (5) P	C-05M6A	50μg	¥ 80,500		
		100μg	¥ 139,000		
GloPIPs-BODIPY® TMR-PtdIns	C-00M6A	50μg	¥ 80,500		
		100μg	¥ 139,000		
GloPIPs-BODIPY®-FL PtdIns	C-00F6A	50μg	¥ 80,500		
		100μg	¥ 139,000		

イノシトールリン酸 (IP)

試薬

高純度・豊富な品揃え

使用目的

各イノシトールリン酸は光学特異的にメチル化 α -D-グルコピラノシドより作られます。こうした化合物の多くはリン酸化イノシチドの先端を形成する官能基部位に相当するものです。これらの化合物の異性体純度は>95%とNMRを用いて評価されています。

IP_n化合物はキナーゼ、ホスファターゼそして結合タンパク質の基質として用いられます。アプリケーションに応じて、凍結乾燥パウダーを水またはバッファーで溶解し、お使いください。

図. 細胞内イノシトールリン酸シグナル

【メーカー：ECL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Ins (1,3) P ₂	Q-0013	0.5mg	¥ 61,500		凍
Ins (1,4) P ₂	Q-0014	0.5mg	¥ 61,500		凍
Ins (1,5) P ₂	Q-0015	0.5mg	¥ 61,500		凍
Ins (1,2,6) P ₃	Q-0126	0.5mg	¥ 61,500		凍
Ins (1,3,4) P ₃	Q-0134	0.5mg	¥ 61,500		凍
Ins (1,3,5) P ₃	Q-0135	0.5mg	¥ 61,500		凍
Ins (1,4,5) P ₃	Q-0145	0.5mg	¥ 61,500		凍
Ins (1,3,4,5) P ₄	Q-1345	0.5mg	¥ 61,500		凍
Ins (1,2,4,5) P ₄	Q-1245	100 μ g	¥ 17,500		凍

イノシトールピロリン酸 (IP₇)

背景

イノシトールピロリン酸 (IP₇) は、タンパク質にリン酸を付加する非酵素性の物質です。近年、IP₇はタンパク質に直接結合して、あるリン酸を離すことでタンパク質をリン酸化すると報告されています(図)。これまでIP₇は、脳内において化学物質の分泌を制御し、タンパク質を構築する細胞の機能を調節する重要な役割を担っていると考えられてきました。

IP₇を発見したSnyder博士は、「IP₇によるタンパク質のリン酸化は、ATPによるリン酸化と同じくらい一般的です。IP₇を構築する酵素は、脳内に最も多く存在していますが、他の部位でも見られます。これまでの研究で明らかになったことは、氷山の一角なのです。」と語っています。

使用目的

- より詳細な解析に
- 免疫蛍光分析に
- 脂質-タンパク質の相互関係の決定に

図. IP₇によるリン酸化

【メーカー：ECL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
5PP-InsP ₅ (IP ₇)	Q-5007	100 μ g	¥ 17,500		凍

ハイブリッドホスホイノシチド Hy-PIPs™

水溶性が高く、細胞膜への分配が優れたホスホイノシチド

使用目的

アクチンの構築や細胞骨格変動、血管でのタンパク質アライメント、プロテインキナーゼの局在化や活性化、細胞増殖やアポトーシス等の様々な細胞機能システムに、ホスファチジルリン酸 [PI (4,5) P₂, PI (3,4,5) P₃] が直接作用していることが明らかとなっています。

Hy-PIP™ は、ビオチン、蛍光、もしくはTMRをラベルしたハイブリッドホスホイノシチドです。キナーゼ、ホスファターゼ、結合タンパク質の基質として培養細胞内に取り込ませることで、シグナル伝達パスウェイや脂質タンパク質の結合、PIPsの細胞内局在の解析等に、大変便利です。

■biotin-Hy-PIP™

品番	R ₃	R ₄	R ₅
H-00BT	H	H	H
H-03BT	PO ₃ Na ₂	H	H
H-34BT	PO ₃ Na ₂	PO ₃ Na ₂	H
H-39BT	PO ₃ Na ₂	PO ₃ Na ₂	PO ₃ Na ₂
H-45BT	H	PO ₃ Na ₂	PO ₃ Na ₂

Biotin Hy-PIP™ (品番: H-00BT~H-45BT)

構造式

ビオチン標識

【メーカー: ECL】

品名	分子量	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Biotin-Hy-PIP	1347.5	H-00BT	5μg	¥ 77,000	○	○
Biotin-Hy-PI (3) P	1471.5	H-03BT	5μg	¥ 77,000	○	○
Biotin-Hy-PI (3,4) P ₂	1595.4	H-34BT	5μg	¥ 77,000	○	○
Biotin-Hy-PI (3,4,5) P ₃	1719.4	H-39BT	5μg	¥ 73,000	○	○
Biotin-Hy-PI (4,5) P ₂	1595.4	H-45BT	5μg	¥ 73,000	○	○

蛍光標識

【メーカー: ECL】

品名	分子量	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Fluorescent HyPI (4,5) P ₂	1558.1	H-34FL	50μg	¥ 85,000	○	○
Fluorescent HyPI (3,4,5) P ₃	1682.0	H-39FL	50μg	¥ 85,000	○	○
Fluorescent HyPI (4,5) P ₂	1558.1	H-45FL	50μg	¥ 85,000	○	○
BODIPY® TMR HyPI (3,4) P ₂	1558.1	H-34TM	50μg	¥ 80,500	○	○
BODIPY® TMR HyPI (4,5) P ₂	2225	H-45TM	50μg	¥ 85,000	○	○
BODIPY® FL Hy-PI		H-00FL	50μg	¥ 85,000	○	○
			100μg	¥ 139,000		
BODIPY®-TR-HyPI (4,5) P ₂		H-45TR	50μg	¥ 85,000	○	○

biotin-Hy-PI (4,5) P₂ (品番H45BT)、biotin-Hy-PI (3) P (品番H-03BT) を用いて、3T3細胞質膜の特定領域における細胞内画分を染色

■Fluorescent Hy-PIP™

品番	R ₃	R ₄	R ₅
H-34FL	PO ₃ Na ₂	PO ₃ Na ₂	H
H-39FL	PO ₃ Na ₂	PO ₃ Na ₂	PO ₃ Na ₂
H-45FL	H	PO ₃ Na ₂	PO ₃ Na ₂

Fluorescent Hy-PIP™ (品番: H-34FL~H-45FL)

リン酸化タンパク質の検出 Detection of phosphorylated proteins

目的	品名	内容および特長	メーカー	掲載ページ
検出キット	Multi-Analyte Profiler ELISAArray™	12種類のサイトカイン/ケモカインを同時に迅速評価できるリン酸化アレイです。	SPA	78
	サイトカインELISAアレイ			
	PathProfiler™ ELISAキット	ヒト細胞溶解液中のタンパク質の修飾を定量決定することができます。	BET	79
	リン酸化I κ B α ActiveELISA™ キット	サンプル中のリン酸化したI κ B α をELISAで検出・定量します。	ALX	79
	リン酸化Tau ELISAキット	サンプル中のリン酸化したTauをELISAで検出・定量します。		80
	INNO-BIA AlzBio3	A β 1-42、トータルtau、リン酸化-tau (Tyr180)をLiminex xMAP®技術を用いて同時測定します。	IGT	80
	VASPリン酸化アッセイキット	デュアルカラーフローサイトメトリーによって、VASPのリン酸化状態からP2Y ₁₂ レセプター反応性を測定するキットです。	BCT	81
	Platelet VASP-FCM			
	ウサギモノクローを用いたリン酸化タンパク質ELISAキット	特異性が高いウサギモノクローナル抗体を使って、リン酸化Zap-70またはリン酸化c-junをサンドイッチELISAで検出・定量します。	EPT	81
	ATPアッセイキットSL	細胞溶解、血小板凝集、代謝産物、酵素アッセイ等でのATPモニタリングに有用です。	BTM	82
精製と濃縮	リン酸化タンパク質抗体セット	リン酸化セリン検出キット リン酸化セリン抗体キット リン酸化スレオニン抗体キット リン酸化スレオニン検出キット リン酸化チロシン検出キット		
	リン酸化タンパク質精製システム PhosphoCruz™	リン酸化タンパク質をカラムを用いて簡単に分離・濃縮できます。	SCB	83
	リン酸化タンパク質研究用細胞&組織抽出液	ポジティブコントロールに最適です。	SCB	83
	リン酸化タンパク質プロットング用ブロッキング試薬PhosphoBLOCKER™	リン酸化タンパク質のプロットング用にデザインされています。	CBL	84
	リン酸化抗体ストリッピング試薬	プロット膜上に固定したタンパク質に影響なくリン酸化抗体のみを除去します。	CBL	84
	リン酸化タンパク質精製・濃縮キット	すばやく簡単に分離・濃縮ができます。	CBL	84
	リン酸化タンパク質濃縮キット	リン酸化タンパク質をカラムを用いて濃縮させます。		85
	ProteoEnrich™ ATP結合タンパク質濃縮キット	ATPを結合したレジンにキナーゼなどATP結合タンパク質を吸着させて、濃縮、精製します。	NVG	85
ATP結合性タンパク質精製キット	ATP結合性タンパク質をアフィニティクロマトグラフィーによって精製するキットです。	JNA	86	

Multi-Analyte Profiler ELISArray™ サイトカイン ELISAアレイ

12種類のサイトカイン/ケモカインレベルを同時に迅速評価

リン酸化アレイが新登場！

背景

Multi-Analyte Profiler ELISArray™ はサンドイッチELISAを用いて、細胞上清(培地)、血清、血漿サンプル内の12種類のタンパク質の相対レベルを同時にみることが出来ます。本キットに含まれるキャプチャーおよび検出用抗体は同じプレート上のそれぞれの抗原を同一条件で検出できるよう、予め最適化されています。

特長

- 12種類のサイトカイン/ケモカインの相対変化を同一条件で一度に検出できます。
- 低バックグラウンド、高感度、直線性に優れています。
- 高価な機器は必要ありません！マイクロプレートリーダーで解析できます。

構成内容

- コート済み96ウェルプレート(8ウェルストリップ 12本)
- スタンダード(1ng/μl)：12本
- 検出抗体(ビオチン標識)：12本
- Avidin-HRP標識
- 10% BSA
- ロバ血清
- サンプル希釈用プレート
- サンプル希釈用バッファー
- 洗浄バッファー
- アッセイバッファー
- ティペロップメント試薬
- 停止液

ELISArray™ プレートのレイアウト(例：品番MEH-004A)
ELISArray™ プレートは12本の8ウェルストリップで構成されています。各ストリップには測定対象のサイトカインに対するキャプチャー抗体が固相され、各ウェルは各サンプルの分析に用いる事ができます。

使用例：8種類のサイトカインの相対量を同時にプロファイリング
Multiple-Analyte ELISArray™ キットを用いて、PMA(50ng/ml)とイオノマイシン(1μg/ml)で刺激後のヒト抹消単核球(PMBC)におけるTh1/Th2サイトカイン誘導の時間依存性パターン(0, 6, 18, 24, 48時間)をモニタリングした。IL-2とIFNγが最も多く検出され、続いてTNFαがタイムコースを通じて誘導された。IL-4とIL-5も誘導されているが、刺激後24時間前におおよそ最大値に達した。さらに、IL-10とIL-13の誘導は、24時間で最大値に達し以後時間の経過とともに減少、IL-12については検出されなかった。

リン酸化検出用 PhosphoELISArray

[メーカー：SPA]

品名 / 測定項目	交差種	品番	サイズ	希望販売価格	貯蔵
Cancer PhosphoELISArray™ Multi-Analyte Kit	HU	FEM-5001H	1アレイ	ご照会	冷蔵
Inflammatory PhosphoELISArray™ Multi-Analyte Kit	HU	FEM-8002H	1アレイ	ご照会	冷蔵

Multi-Analyte Profiler ELISArray™

[メーカー：SPA]

品名 / 測定項目	交差種	品番	サイズ	希望販売価格	貯蔵
Th1 / Th2 / TH17 Cytokines Multi-Analyte ELISArray™ Kit IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17A, IFNγ, TNFα, G-CSF, TGFβ1	HU	MEH-003A	1アレイ	¥ 84,000	冷蔵
Th1 / Th2 / TH17 Cytokines Multi-Analyte ELISArray™ Kit IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17A, IL-23, IFNγ, TNFα, TGFβ1	MS	MEM-003A	1アレイ	¥ 84,000	冷蔵
Inflammatory Cytokines Multi-Analyte ELISArray™ Kit IL-1A, IL-1B, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17A, IFNγ, TNFα, GM-CSF	HU	MEH-004A	1アレイ	¥ 84,000	冷蔵
Inflammatory Cytokines Multi-Analyte ELISArray™ Kit IL-1A, IL-1B, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17A, IFNγ, TNFα, G-CSF, GM-CSF	MS	MEM-004A	1アレイ	¥ 84,000	冷蔵
Autoimmune Response Multi-Analyte ELISArray™ Kit IL-1B, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17A, IFNγ, TNFα, TGFβ1, MCP-1, MIP-1a, MIP-1b	HU	MEH-005A	1アレイ	¥ 84,000	冷蔵
Autoimmune Response Multi-Analyte ELISArray™ Kit IL-1B, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-17A, IFNγ, TNFα, TGFβ1, MCP-1, MIP-1a, MIP-1b	MS	MEM-005A	1アレイ	¥ 84,000	冷蔵
Common Cytokines Multi-Analyte ELISArray™ Kit IL-1A, IL-1B, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17A, GM-CSF	HU	MEH-006A	1アレイ	¥ 84,000	冷蔵
Common Cytokines Multi-Analyte ELISArray™ Kit IL-1A, IL-1B, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17A, G-CSF, GM-CSF	MS	MEM-006A	1アレイ	¥ 84,000	冷蔵
TLR-induced Cytokines Multi-Analyte ELISArray™ Kit TNFα, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-17A, IL-8, MCP-1, RANTES, IP-10, MIG, TARC, IFNα	HU	MEH-007A	1アレイ	¥ 84,000	冷蔵
TLR-induced Cytokines II Multi-Analyte ELISArray™ Kit TNFα, IL-1β, IL-6, IL-12, IL-17A, IL-8, MCP-1, RANTES, MIP-1α, MIP-1β, MDC, Eotaxin	HU	MEH-008A	1アレイ	¥ 84,000	冷蔵
Common Chemokines Multi-Analyte ELISArray™ Kit IL-8, MCP-1, RANTES, MIP-1α, MIP-1β, IP-10, I-TAC, MIG, Eotaxin, TARC, MDC, GROα	HU	MEH-009A	1アレイ	¥ 84,000	冷蔵

SAバイオサイエンス社では、お好みの個別のサイトカインELISAキット「Single Analyte ELISArray™ キット」を12項目お選びいただいでご希望の「Multiple ELISArray™」の作製受託サービスも行っています。受託サービスの詳細は、コスモ・バイオ 受託サービス担当までご照会ください。
TEL：03-5632-9616 FAX：03-5632-9614 E-mail：jutaku@cosmobio.co.jp

PathProfiler™ ELISA キット

タンパク質リン酸化の定量に有用なツールが新登場！

使用目的

PathProfiler™ ELISAキットは、ヒト細胞溶解液中のタンパク質の修飾を定量決定することが可能です。

特長

- 2種類の検出抗体モジュールの選択
 - ・総タンパク質とリン酸化タンパク質を同時に測定。
 - ・それぞれの検出抗体モジュールは、48ウェル分の量が含まれます。
 - ・追加の検出抗体モジュールを別途ご購入いただき、検出オプションを広げることができます。

構成内容

- コート済み96ウェルプレート
- サンプル希釈液
- TMB基質
- 20×洗浄バッファー
- 取扱い説明書
- 2種類の検出抗体モジュール
- HRP溶液
- 反応停止液
- シール

図1 PathProfiler™ ELISAキットによる総Histone H3とリン酸化Histone H3 (S10)の検出
A549, HeLa, K562およびJurkat細胞は血清欠乏培地で一晚培養した。細胞を血清で刺激した後、0.5μg/mlのCalycutin Aで37°C, 5% CO2で15分間の条件で処理した。細胞を溶解し、PathProfiler™ Total Histone H3 (品番: E300-001A)とPhospho Histone H3 (S10)検出モジュール (品番: E300-001B)をそれぞれ用いてスクリーニングした。

図2 PathProfiler™ ELISAキット (品番E-300-002)による総MCM2とリン酸化MCM2 (Ser27)、リン酸化MCM2 (Ser108)の検出
A549, HeLa, K562, Jurkat細胞を細胞溶解バッファーで溶解した。トータルタンパク質の濃度を決定し、20μg/mlに希釈し、総MCM2とリン酸化MCM2 (Ser27)、リン酸化MCM2 (Ser108)をそれぞれの検出モジュールで測定した。

【メーカー：BET】

品名	適用種	検出抗体モジュール	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Histone H3 ELISA	Human	●Total Histone H3 ●リン酸化 Histone H3 (Ser10)	E300-001	1キット(96ウェル)	¥ 137,000	☉
MCM2 ELISA	Human	下記抗体より2つお選びいただけます。 ●Total MCM2 ●リン酸化 MCM2 (Ser27) ●リン酸化 MCM2 (Ser108)	E300-002	1キット(96ウェル)	¥ 137,000	☉

■関連商品：検出抗体モジュール

【メーカー：BET】

品名	適用種	品番	包装	希望販売価格	貯蔵
Total Histone H3 Detection Antibody Module	Human	E300-001A	1vial (48ウェル)	¥ 25,000	☉
Phospho Histone H3 (Ser10) Antibody Module	Human	E300-001B	1vial (48ウェル)	¥ 25,000	☉
Total MCM2 Detection Antibody Module	Human	E300-002A	1vial (48ウェル)	¥ 25,000	☉
Phospho MCM2 (Ser27) Detection Antibody Module	Human	E300-002B	1vial (48ウェル)	¥ 25,000	☉
Phospho MCM2 (Ser108) Detection Antibody Module	Human	E300-002C	1vial (48ウェル)	¥ 25,000	☉

リン酸化IκBα ActiveELISA™ キット

使用目的

サンプル中のリン酸化したIκBαをELISAにより検出・定量できます。

【メーカー：ALX】

品名	適用種	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
リン酸化IκBα ActiveELISA™ キット Phospho-IκBα-ActiveELISA Assay Kit (IMGENEX)	Human	850-286-KI01	1キット (2×96ウェル)	¥ 111,000		☉凍

リン酸化Tau ELISAキット

アルツハイマー病の研究に・・・

背景

タウ(Tau)は、352から441個のアミノ酸からなる分子量45~50kDaの微小管結合タンパク質で、神経細胞内において細胞内物質輸送能を持つ微小管を安定化する働きを持っています。神経原繊維変化の主成分はPHF(paired helical filament)と呼ばれるもので、このPHFは神経細胞内に蓄積されます。過剰なリン酸化タウタンパク質が凝集しPHFの主要構成成分をつかさどっています。タウタンパク質のリン酸化にはGSK-3βが関わっていると考えられていて、Aβにより活性が促進されタウタンパク質をリン酸化します。

タウタンパク質は通常、脳脊髄液(CSF)中においてはほとんど検出されませんが、アルツハイマー病のような神経変性疾患では神経細胞の破壊によりタウタンパク質がCSF中に放出され高い値となります。つまり、タウタンパク質の検出は神経変性の指標となり、神経変性を伴わない痴呆やうつ病等の精神疾患を区別するのに有用です。

by INNOGENETICS N.V.

INNOGENETICS N.V.社 INNOTESTTM PHOSPHO-TAU (181P) (#80317)の測定原理

品名	感度	測定範囲	適用種	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Tau (pThr181), INNOTEST	<15.6pg/ml	15.6-500pg/ml	Human	IGT	80062	1キット	¥ 210,000	⊗	⊗
Tau (Total)		75-1200pg/ml	Human	NIP	11001	1キット	¥ 200,000	⊗	⊗

INNO-BIA AlzBio3

Aβ 1-42、トータルtau、リン酸化-tau (Tyr180) を
Liminex xMAP® 技術を用いて同時測定

背景

ヒト脳脊髄液(CSF)中のAβ 1-42、トータルtau、リン酸化-tau (Tyr180) をxMAP®*技術を用いて同時に測定するキットです。

*xMAP®はLuminex Corp.の登録商標です。

特長

- ルミネックスのビーズベースのアッセイ法です。
- バイオプレックスにもお使いいただけます。
- 高性能：低濃度条件下における再現性が高く、広いダイナミックレンジを示します。
- 簡単：
 - ・操作方法はたったの1つです。
 - ・6つのReady-to-useのスタンダードが含まれています。

構成内容

- Coated Beads 100×
- Conjugate 1 100×
- Detection Conjugate 100×
- Diluent
- Reading Solution
- Wash Solution 25×
- Standard
- Control
- Multiscreen 96-well filter plate
- Adhesive plate Sealers
- AlzBio3 Standard & Control concentrations

図1 測定方法

[メーカー：IGT]

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
INNO-BIA AlzBio3	80584	1キット(96ウェル)	¥ 400,000		

VASPリン酸化アッセイキット PLATELET VASP-FCM

虚血症等の研究に・・・！

背景

VASPのリン酸化はcAMPカスケードによって制御されています。PGE1 (Prostaglandin E1)はこのカスケードを活性化する(1)一方で、P2Y12レセプター(ADPレセプター)によるADPによって阻害されます(2)。テスト条件下では、VASPのリン酸化はP2Y12レセプターの阻害と相互作用する一方、非リン酸化状態は、P2Y12レセプター活性型と相互作用します。チクロピジン(血小板凝集抑制薬)やクロピドグレル(抗血小板薬; TXA2産生阻害)は、不可逆的にP2Y12レセプターを阻害し(3)、この影響は、ADPを同時に添加してもPGE1によって誘導される、VASPリン酸化の持続性によって説明が可能です。

使用目的

デュアルカラーフローサイトメトリーによって、VASPのリン酸化状態から、P2Y₁₂レセプター反応性を測定するキットです。

構成内容

- Diluent
- PGE1
- PGE1 + ADP
- Fixative agent

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
VASPリン酸化アッセイキット PLATELET VASP-FCM	7014	10テスト	¥ 28,000		☼

【メーカー：BCT】

- Anti VASP-P monoclonal antibody
- Negative isotypic control
- Staining reagent -FITCconjugated + counter staining reagent (CD61-PE)

測定方法

血液サンプルをPGE1のみ、もしくはPGE1+ADPと共にインキュベーションします。細胞透過処理後、リン酸化状態のVASPは、特異的なモノクローナル抗体を用いて間接蛍光抗体法により標識されます。デュアルカラーフローサイトメトリーにより、2つのテスト条件を比較し、各サンプルにおける、VASPリン酸化を阻害するADPの能力を評価します。P2Y₁₂反応性の比は、PGE1のみかPGE1+ADPの存在におけるMFIc (Mean Fluorescence Intensities)を用いて計算できます。

ウサギモノクローナル抗体を用いた リン酸化タンパク質検出ELISAキット

アポトーシス等の癌研究に・・・

使用目的

リン酸化Zap-70またはリン酸化c-junをサンドイッチELISA法により検出・定量できます。ウサギモノクローナル抗体を用いていますので、高い特異性を示します。

構成内容

- 抗体コートプレート
- ビオチン標識抗体液
- HRP標識ストレプトアビジン
- 抗原/抗体希釈バッファ
- 洗浄バッファ
- TMB A 基質溶液
- TMB B 基質溶液
- 反応停止液

図1. jurket細胞のライゼートを過バナジウム酸(チロシンキナーゼ阻害剤)で処理すると、Zap-70のリン酸化(492番目のチロシン)量の増加が観察された。

図2. 3T3細胞のアニソマイシン処理による、c-junのリン酸化刺激。c-Jun (total)およびリン酸化c-Jun (pT91/93)のサンドイッチELISAキットとウェスタンブロットにより検出した。

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ZAP-70 total	6114-1	1キット(96ウェル)	¥ 95,000		☼
ZAP-70 Phospho (Tyr492) ELISA Kit	6113-1	1キット(96ウェル)	¥ 95,000		☼
Total & phospho ZAP-70 Dual Detection ELISA kit	6117-1	1キット(96ウェル)	¥ 95,000		☼
c-Jun	6111-1	1キット(96ウェル)	¥ 95,000		☼
c-Jun Phospho (Tyr91/93) ELISA Kit	6115-1	1キット(96ウェル)	¥ 95,000		☼
Total & phospho (Thr91/93) c-Jun Dual Detection ELISA kit	6116-1	1キット(96ウェル)	¥ 95,000		☼

【メーカー：EPT】

ATPアッセイキット SL

使用目的

- 細胞溶解、血小板凝集、代謝産物、酵素アッセイでのATPをモニタリング
- 酸化的リン酸化反応、光リン酸化反応のモニタリング

特長

- 測定時間：数分
- 安定した光：半減期は、1時間以上
- 検出限界： 10^{-15}mol あるいは $10^{-12} \text{mol} / \mu\text{L}$ ATP
- 高い再現性：ATPスタンダード(液状品)
- キュベット法(200テスト分)とマイクロプレート法(1000テスト分)に使用可

構成内容

キットは、最終的なアッセイ量(0.2-1ml)により、200-1000アッセイで使えます。

- ATP Reagent SL(凍結乾燥品：4本)
- Diluent C 10ml(ATP Reagent SL再構成用：4本)
- ATP Standard 5ml(4本)
- Tris-EDTA Buffer 2x100ml

【メーカー：BTM】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ATP Kit	144-041	1000テスト	¥ 75,000		凍

リン酸化タンパク質抗体セット

品名	構成内容	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
リン酸化セリン検出キット Phosphoserine Detection Kit	<ul style="list-style-type: none"> ・ Anti pS (1C8) ・ Anti pS (4A9) ・ Anti pS (7F12) 	ALX	850-023-KI01	1セット	¥ 130,000		凍
リン酸化セリン検出キット Phosphoserine Detection Kit	<ul style="list-style-type: none"> ・ Anti pS (4A3) ・ Anti pS (4H4) ・ Anti pS (16B4) 	CBC	525282	1キット	¥ 100,000		凍
リン酸化セリン抗体キット Anti Phosphoserine kit	<ul style="list-style-type: none"> ・ Anti pS (1C8) ・ Anti pS (4A9) ・ Anti pS (7F12) ・ Phosphoserine/threonine ポジティブコントロール (ウサギ筋肉由来のリン酸化タンパク質) 	NAT	0701	6x25 μg	¥ 97,000		凍
リン酸化スレオニン抗体キット Anti Phosphothreonine kit	<ul style="list-style-type: none"> ・ Anti pT (4A3) ・ Anti pS (4H4) ・ Anti pS (16B4) ・ Phosphoserine/threonine ポジティブコントロール (ウサギ筋肉由来リン酸化タンパク質) 	NAT	0702	3x25 μg	¥ 54,000	毒	凍
リン酸化スレオニン検出キット Phosphothreonine Detection Kit	<ul style="list-style-type: none"> ・ Anti pT (1E11) ・ Anti pT (14B3) ・ Positive Control (rabbit muscle) 	CBC	525288	1キット	¥ 83,100		凍
リン酸化スレオニン検出キット Phosphothreonine Detection Kit	<ul style="list-style-type: none"> ・ Anti pT (1E11) Mouse IgG1 ・ Anti pT (4D11) Mouse IgG1 ・ Anti pT (14B3) Mouse IgG1 ・ Positive Control (rabbit muscle) 	CBC	525288	1キット	¥ 83,100		凍
リン酸化スレオニン検出キット Phosphothreonine Detection Kit	<ul style="list-style-type: none"> ・ Anti pT (1E11) ・ Anti pT (14B3) ・ Positive Control 	ALX	850-024-KI01	1セット	¥ 73,000		凍
リン酸化チロシン検出キット Phosphotyrosine Detection Kit	<ul style="list-style-type: none"> ・ Anti pY (2C8) ・ Anti pY (9H8) ・ Positive Control 	CBC	525322	1キット	¥ 101,000		凍
リン酸化チロシン検出キット Phosphotyrosine Detection Kit	<ul style="list-style-type: none"> ・ Anti pY (3B12) ・ Anti pY (16F4) ・ Anti pY (9F1) ・ Positive control 	ALX	850-025-KI01	1セット	¥ 114,000		凍
リン酸化チロシン検出キット Phosphotyrosine Detection Kit	<ul style="list-style-type: none"> ・ Anti pY (2C8) ・ Anti pY (9H8) ・ Anti pY (1F9) ・ Anti pY (2A5) 	ALX	850-025-KI01	1セット	¥ 114,000		凍

リン酸化タンパク質精製システムPhosphoCruz™

リン酸化タンパク質をカラムを用いて簡単に分離・濃縮できます！

使用目的

このシステムは、目的のタンパク質のリン酸化研究用に、細胞溶解液からリン酸化タンパク質を単離・濃縮するためにデザインされています。リン酸基を持ったタンパク質は、特異的にレジンに保持され、非リン酸化タンパク質はカラムを通過しunbound分画に集まります。続いて、レジンに保持されたリン酸化タンパク質をレジンから溶出します。

特長

- 操作時間は1.5~2時間
- リン酸化タンパク質の研究に最適！
- リン酸化濃縮タンパク質の収率は、トータルタンパク質の5-10%です。
- カラムにロードする推奨タンパク質量は、2.5-5mgです。

構成内容

IMAC (Immobilized Metal Affinity Chromatography) を利用した、6種類のリン酸化タンパク質濃縮操作に必要な全ての試薬が含まれています。

- カラム(リン酸化タンパク質アフィニティーレジンを含む)：6個
- 2× 結合/洗浄バッファー：100ml
- 溶出バッファー 30ml
- フォスファターゼインヒビター(カクテル1&2)
- マイクロ濃縮器(10,000 MWCO)

※濃縮効率は落ちますが、カラムは再利用可能です。リン酸化タンパク質に特異的なアガロースビーズを別売しています(関連商品参照)。

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PhosphoCruz™ リン酸化タンパク質精製システム PhosphoCruz™ Protein Purification System	SC-24964	1キット	¥ 48,000		☉

【メーカー：SCB】

キットコンポーネント

【メーカー：SCB】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
結合/洗浄バッファー, 2× Binding/Wash Buffer, 2×	SC-24965	100ml	¥ 13,000		☉
限外ろ過濃縮器 Ultrafiltration Concentrators	SC-24966	20パック	¥ 6,000		☉

関連商品

【メーカー：SCB】

品名	内容	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PhosphoCruz™ アガロース PhosphoCruz-Agarose™	・0.5mlアガロース/2.0ml(100反応分) ・リン酸化タンパク質に特異的 ・1-2mgの細胞溶解液からのリン酸化タンパク質精製に適合	SC-24957	2ml	¥ 9,000		☉

関連商品

リン酸化タンパク質研究用細胞&組織抽出液

■リン酸化濃縮 全細胞溶解液 —ウエスタンブロッティング用—

PhosphoCruz™ protein Purification system(品番sc-24964)を使用して抽出した細胞溶解液です。各バイアルには50µg/50µl in SDS-PAGE WB Buffer。1レーンあたり5-20µgの使用をおすすめします。

【メーカー：SCB】

品名	種由来	品番	毒劇	貯蔵
		¥ 20,000/50µg		
A-431	Human	SC-24801		凍
A-431 + EGF処理	Human	SC-24802		凍
CCD-1064SK + PDGF処理済	Human	SC-24803		凍
CCD-1064SK	Human	SC-24804		凍
HeLa	Human	SC-24805		凍
HeLa + Calyculin A処理済	Human	SC-24806		凍
HeLa + IFN-α処理済	Human	SC-24807		凍
HeLa + PMA処理済	Human	SC-24808		凍
HeLa + serum処理済	Human	SC-24809		凍
HeLa + serum starved処理済	Human	SC-24810		凍
HeLa + TNFα処理済	Human	SC-24811		凍
HeLa + UV処理済	Human	SC-24812		凍
MCF7	Human	SC-24813		凍

プロトコール

事前に、細胞・組織溶解液を準備します。

調製プロトコールは下記アドレスのサンタクルズ社プロトコール中のA. サンプル調製をご参照ください(このプロトコールは弊社ホームページ、「技術情報」欄よりご覧いただけます)。

- ①溶解液のタンパク質濃度を決定
- ②レジンを平衡化
- ③タンパク質希釈しカラムへ
- ④洗浄操作
- ⑥溶出操作
- ⑦マイクロ濃縮器を用いてサンプルを濃縮

図1

図2

サンプルは、EGF処理済A-431細胞。本キットを用いてリン酸化タンパク質の抽出を行った。

図1. リン酸化EGFR抗体(品番sc-508)を用いたウエスタンブロッティング解析

図2. HSP60抗体(品番sc-13115)を用いたウエスタンブロッティング解析

レーンA/B: unbound分画

レーン: 図1. と同一サンプル。

C/D: bound分画(phosphoprotein enriched)

E/F: EGF未処理及び処理済み培養液から調製した細胞溶解液

ポジティブコントロールに最適！

品名	種由来	品番	毒劇	貯蔵
		¥ 20,000/50µg		
MCF7 + etoposide処理済	Human	SC-24814		凍
MCF7 + insulin処理済	Human	SC-24815		凍
NIH/3T3	Mouse	SC-24816		凍
NIH/3T3 + anisomycin処理済	Mouse	SC-24817		凍
NIH/3T3 + heat shock処理済	Mouse	SC-24818		凍
NIH/3T3 + IL-6処理済	Mouse	SC-24819		凍
NIH/3T3 + PDGF処理済	Mouse	SC-24820		凍
NIH/3T3 + PMA処理済	Mouse	SC-24821		凍
NIH/3T3 + serum処理済	Mouse	SC-24822		凍
NIH/3T3 + serum starved処理済	Mouse	SC-24823		凍
NIH/3T3 + TNFα処理済	Mouse	SC-24824		凍
SK-MEL-28	Human	SC-24825		凍
SK-MEL-28 + IFN-α処理済	Human	SC-24826		凍

リン酸化タンパク質ブロッキング用 ブロッキング試薬 PhosphoBLOCKER™

リン酸化タンパク質のブロッキングに

背景

タンパク質のリン酸化-脱リン酸化は、遺伝子発現、細胞接着、細胞周期、細胞増殖、分化等、タンパク質の機能的特性を調節する主なシグナル機構の一つです。タンパク質は、タンパク質キナーゼにより特定のセリン、スレオニン、もしくはチロシンがリン酸化されます。

ウェスタンブロッキングでリン酸化タンパク質特異的抗体を用いることは、シグナル伝達研究分野では一般的となっています。しかしながら、高濃度の抗体を用いたり暴露時間を延長したりしても、様々な細胞溶解液中の低レベルの内因性リン酸化タンパク質が検出されないことがしばしばあります。

最も広く用いられているウェスタンプロットブロッカー（ドライミルク、血清等）は、メンブレン上の未反応部位をブロックするには十分で、アッセイ中の抗体の非特異的な結合を減らしますが、ブロッキング中に、リン酸化タンパク質抗原を保護するにはデザインされていません。

セルバイオラボ社のPhosphoBLOCKER™ は、これらの問題を解消するべく独自にデザインされており、一般的なブロッカーと比べて、次のような特長があります。

特長

- リン酸化タンパク質のブロッキング用にデザインされています。
- バックグラウンドを高めることなく、低レベルのリン酸化タンパク質シグナルの増幅が可能です。
- TBSTまたはPBSTで溶解するだけでですので、簡単に使用できます。

使用方法

TBSTもしくはPBSTで、PhosphoBLOCKER™ を5%濃度になるように調製します。調製した5%溶液を、プロットのプロッキングに使用してください。また、プロットをブローピングする際に、使用する一次抗体及び二次抗体の希釈として5% PhosphoBLOCKER™ 溶液を用いてください。

図A549細胞溶解液中のリン酸化p38のウェスタンブロッキング
A549細胞溶解液を、ドライミルクもしくはPhosphoBLOCKER™ でブロッキングした後、リン酸化p38抗体で検出した。

【メーカー：CBL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
PhosphoBLOCKER™ (1 ℓ)	AKR-103	50 g (1 ℓ分)	¥ 39,000		☉
PhosphoBLOCKER™ (4 ℓ)	AKR-104	200 g (4 ℓ分)	¥ 97,000		☉

リン酸化抗体ストリッピング 試薬

プロット膜上に固定したタンパク質に影響なくリン酸化抗体のみを除去。

背景

リン酸化抗体ストリッピング試薬を使用することで、プロット膜上に固定したタンパク質に大きな影響を与えることなくリン酸化抗体のみを剥がし、同じ抗体あるいは異なる抗体で再度プロット膜と反応させることができます。操作は室温で行い、加熱操作などは必要ありません。

図1. 4G10リン酸化チロシン抗体のプロットおよびストリッピング

【メーカー：CBL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Phospho Antibody Stripping Solution, 75×	AKR-102	1キット (10ml)	¥ 61,000		☉

リン酸化タンパク質精製・ 濃縮キット

すばやく簡単に分離・濃縮できます！

使用目的

組織や培養細胞から、リン酸化タンパク質を簡単に濃縮できます。金属キレートアフィニティの原理で、リン酸化タンパク質、リン酸化ペプチドを濃縮します。25 gの組織もしくは10⁹個の細胞を処理できます。

特長

- 濃縮されたタンパク質は、ウェスタンブロッキングに使用可能です。
- 適切な保存/再生で、カラムは1~2回使用可能です。

構成内容

- Columns, prepacked
- Wash buffer, (10X)
- Elution buffer, (10X)
- Lysis buffer, (1X)
- Sample buffer, (5X)

【メーカー：CBL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
リン酸化タンパク濃縮キット Phosphoprotein Enrichment Kit	525278	1キット	¥ 108,900	☉	☉

リン酸化タンパク質濃縮キット

使用目的

Western Blotting をする際、組織/細胞培養中のリン酸化タンパク質を濃縮させるカラムを提供しています。

品名	メーカー	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Phosphoprotein Enrichment Kit	ALX	850-289-K101	1キット	¥143,700		☉
Phosphoprotein Enrichment Kit	CBC	525278	1キット	¥108,900	毒	☉

構成内容

- 2 Columns, prepacked (1 ml bed volume)
- 2 x 50 ml Washing Buffer (10x, yellow, pH 5.5)
- 1 x 50 ml Elution Buffer (10x, red, pH 8.0)
- 2 x 50 ml Lysis Buffer (1x) for cell/tissue extraction
- 1 ml Sample Buffer (5x, pink)

ProteoEnrich™ ATP結合タンパク質濃縮キット

使用目的

キナーゼなどATP結合タンパク質の濃縮用、ATP結合タンパク質と相互作用するタンパク質も共抽出できます。本キットでは、ATPを結合したレジンにキナーゼなどATP結合タンパク質を吸着させて、濃縮、精製します。ATPはγ位のリン酸の位置でリンカーを介してレジンと結合しているため、ATPとキナーゼとの結合には影響がありません(図1)。このATPにキナーゼなどが結合して精製されます。

図1. ATP-Binders Resinの構造

図2. 操作手順

構成内容

- ATP-Binders™ Resin
- 1 PBS Tablet
- 2 x 5 ml 100mM EDTA
- 1M DTT
- ATP-Binders 6 x Resin Conditioning Buffer (25mM HEPES, 10% Tween®-20, pH7.2)
- ATP-Binders 5 x Bind Buffer (300mM MgCl₂, 150mM NaCl, 125mM HEPES, 0.25% NP-40, pH7.2)
- ATP-Binders Wash Buffer Concentrate (750mM NaCl, 300mM MgCl₂, 125mM HEPES, 0.25% NP-40, pH7.2)
- ATP-Binders Elution Buffer Concentrate (125mM HEPES, 100mM ATP, 0.25% NP-40, pH7.2)
- ATP-Binders 10 x Nucleotide Mix (10 x = 10mM ADP, 10mM AMP, 10mM NADH, pH7.0)
- Protease Inhibitor Cocktail Set V, EDTA-Free, Lyophilized
- 100mM DTT x 2
- Activated Sodium Vanadate (200mM Na₃VO₄, pH10.0)
- pkg/10 Spin Filter, 2 ml capacity

その他

図1. ATP-Binders Resinの特長

粒子サイズ: 200 μm

容積: 3.5 ml/g (wet resin per gram by weight)

タンパク質結合能: 150-250 μg/ml (per ml packed resin)

キナーゼ結合能: およそ250 U/ml (per ml packed resin)

図3. ラット脳サンプルからの濃縮

【メーカー: NVG】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ProteoEnrich™ ATP結合タンパク質濃縮キット	71438-3	1キット	¥ 77,500		☉
ProteoEnrich™ ATP-Binders Kit					

関連商品

【メーカー: NVG】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ATP結合レジン	71445-3	100mg	¥ 33,200		☉
ATP-Binders Resin					

ATP結合性タンパク質精製キット

使用目的

本キットはATP誘導体を固定したsepharoseビーズを用いて、ATP結合性タンパク質をアフィニティクロマトグラフィーによって精製するキットです。キットにはATP誘導体の他にタンパク質精製に必要な試薬も含まれています。

構成内容

- ATP sepharose ビーズ(品番ごとに種類が異なります)
- Sodium orthovanadate, activated, pH 10.0
- Protease-inhibitor-mix
- PBS tablet
- Binding buffer
- Wash buffer
- Elution buffer

【メーカー：JNA】

品名	ATP-Sepharoseの種類	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ATP AffiPur Kit I	AP-ATP Sepharose	AK-103L	1キット	¥124,000		冷凍
		AK-103S	1キット	¥36,000		冷凍
ATP AffiPur Kit II	8AH-ATP Sepharose	AK-104L	1キット	¥83,000		冷凍
		AK-104S	1キット	¥24,000		冷凍
ATP AffiPur Kit III	6AH-ATP Sepharose	AK-105L	1キット	¥83,000		冷凍
		AK-105S	1キット	¥24,000		冷凍
ATP AffiPur Kit IV	EDA-ATP Sepharose	AK-106L	1キット	¥193,000		冷凍
		AK-106S	1キット	¥55,000		冷凍

■ATPアフィニティテストキット

使用目的

4種類のATP誘導体固定化Sepharose (AP-ATP sepharose、8AH-ATP sepharose、6AH-ATP sepharose、EDA-ATP sepharose) の中でどれが適しているかを検討するキットです。

構成内容

- ATP sepharoseビーズ (AP-ATP sepharose、8AH-ATP sepharose、6AH-ATP sepharose、EDA-ATP sepharose)
- Sodium orthovanadate, activated, pH 10.0
- Protease-inhibitor-mix
- PBS tablet
- Binding buffer
- Wash buffer
- Elution buffer

【メーカー：JNA】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ATP Affinity Test Kit	AK-102	1キット	¥36,000		冷凍

シグナル研究 汎用キット Universal kits for signal research

目的	品名	内容および特長	メーカー	掲載ページ
抽出・精製・濃縮システム	ChampionChIP™ One-Dayキット	簡単にクロマチン免疫沈降サンプルを調整できます。	SPA	88
	ExactaCruz™ 免疫沈降/ウェスタンブロット検出システム (AmpliCruz™)	IP抗体のH鎖とL鎖を検出せずに目的タンパク質のバンドだけを検出します。	SCB	89
	ProteoJET™ キット	哺乳類の培養細胞や組織のタンパク質を簡単に抽出できるタンパク質定量、1D・2D電気泳動、面系沈降、ウェスタンブロット、EMSA、酵素活性、レポーター遺伝子アッセイに使用できます。		90
	ProteoJET™ 細胞質/核タンパク質抽出キット	簡単に細胞質・核タンパク質を抽出できます。	FER	90
	ProteoJET™ 膜タンパク質抽出キット	活性を保持した未変性の膜タンパク質を高収量で抽出します。	FER	90
	ProteoJET™ トータルタンパク質	室温で総タンパク質を抽出できます。	FER	91
	ProteoExtract™ シリーズ			91
	細胞分画キット S-PEK	動物細胞から細胞質-膜-核-骨格に4ステップで分画抽出!	CBC	91
	可溶性分画キット P-PEK	細胞タンパク質を、可溶性の違いによって4段階抽出するキットです。細胞のタンパク質を段階的に可溶化し、数倍に濃縮した形で得ることができます。	CBC	92
	ホールクールド抽出キット C-PEC	抽出バッファーを加えて遠心するだけで一度に細胞の総タンパク質を抽出できるキットです。	CBC	92
	膜貫通型タンパク質抽出キット TM-PEK	GPCRや7回膜貫通型タンパク質が可能です。	NVG	93
	膜タンパク質抽出キット M-PEK	膜タンパク質を簡単な操作で、機能を保持したまま抽出するキットです。	CBC	94
	タンパク質濃縮キット	タンパク質の沈殿・クリーンアップ用の簡便で再現性の高いキットです。	CBC	94
	血清アルブミン・グロブリン除去キット	血清中から血清アルブミンを除去することにより、他のタンパク質の視覚化や解析を容易にします。	CBC	94
	ProteoSpin™ エンドトキシン除去キット	タンパク質、ペプチドのエンドトキシンを0.01EU/μg以下に減らします。	NOG	95
	タンパク質定量解析用キット SERVA ICPL™ Triplex Kit	安定したアイソトープ標識をマスマスペクトルと組み合わせることにより、タンパク質混合複合体中の1,000種類ものタンパク質を同定・定量することができます。	SER	95
	タンパク質定量化キット Bradford ULTRA	1%以下の界面活性剤下で使用できるタンパク質定量キット。	NVX	96
	ProLite™ タンパク質定量キット	発光を利用してタンパク質を検出するキットです。	ABD	96
	BCA タンパク質定量キット	ピシニコニン酸 (BCA) 試薬を使ったタンパク質定量を行うための試薬セットです。	NVG	96
	染色・検出システム	Picotan®/Picotein® 微量タンパク質検出試薬	ピコグラム (pg) レベルの微量タンパク質の検出が可能です。	LSL
WEST-one™ ウェスタンブロット検出システム		スプレーするだけのウェスタンブロット試薬。	INB	98
Review™ Stripping & Reprobing Buffer		抗体を除去し、貴重なサンプルを同じブロットでリプローブします。	AMR	99
Western-Re-Probe™		使用後のメンブレンが、15~30分で再利用可能に。	ALP	99
ウェスタンブロット除去試薬 "BlotFresh™"		メンブレンに結合した抗原の結合力を損なうことなくメンブレンから抗体を除去することができる試薬です。	CBC	100

ChampionChIP™ One-Day キット

簡単にクロマチン免疫沈降サンプルを調製できます！

使用目的

最適化したプロトコルステップを採用することで、よりシンプルにクロマチン免疫沈降サンプルを調製できるようになりました。免疫沈降反応に必要な全てのバッファー、クロスリンクをはずすために必要な試薬、タンパク質からゲノムDNAを精製するための試薬が含まれています。

また、リアルタイムPCRに必要なクオリティと高収率を兼ね備えたChIP DNAを単離することができますので、得られたDNAをChIP-qPCRアッセイを用いたリアルタイムPCR検出にそのままお使いいただけます。

※別途、クロスリンク剤とクロマチン免疫沈降用の抗体が必要です。

特長

- 実験操作は一日で終了します。
- ChIPグレードの抗体と一緒にお使いいただけます。
- リアルタイムPCR用の高品質、高収率のDNAが得られます。
- プロトコルを最適化&簡便化していますので、推測で行う操作を省くことができます。

構成内容

プロトコルの各操作(A~C)に必要な試薬が揃っています。

A. クロマチン調製試薬

- 10XPBS
- Protease Inhibitor Cocktail
- 10X Stop Buffer
- IP Lysis Buffer

B. 免疫沈降試薬

- IP Buffer A
- Protein A Beads
- IP Wash Buffer I
- IP Wash Buffer II
- IP Wash Buffer III
- IP Wash Buffer IV

C. DNAの単離&精製試薬

- ChIP-Grade Proteinase K
- DNA Extraction Beads
- Elution Buffer
- Column Binding Buffer
- DNA Spin Columns
- Non-Stick Elution Tube (1.7 ml)
- 2ml Tubes (Sonication)
- 5ml Tubes (Pre-Clear)

プロトコル

A: クロマチン調製

- ① クロマチン DNA とタンパク質をクロスリンク
- ② 細胞の採取
- ③ 細胞の溶解
- ④ クロマチン DNA の断片化

B: 免疫沈降

C: DNA の単離 & 精製

- ① クロスリンクをはずす
: タンパク質から結合している DNA を解離する
- ② DNA の精製: スピニングカラムでタンパク質から DNA を精製

D: ChIP サンプルの検出 & データ解析

Input フラクションと ChIP サンプルにおいてゲノム DNA 領域の相対量を qPCR を用いて検証

[メーカー: SPA]

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ChampionChIP™ One-Day kit	GA-101	1キット (12アッセイ)	¥41,000		冷蔵

ExactaCruz™ 免疫沈降/ウェスタンブロット検出システム

IP抗体のH鎖とL鎖を検出せずに目的タンパク質のバンドのみを検出！

方法

使用目的

免疫沈降 (IP) で得られたタンパク質をウェスタンブロット (WB) で検出する際、IP用抗体のH鎖とL鎖に対するバンドを効果的に除去するための試薬です。IP用及びWB用にヤギ、マウス、ウサギのどの抗体の組み合わせにも対応するよう、6種類の検出システムを取り揃えています。

各キットには、目的の抗原抗体複合体を沈殿させるために必須のIPマトリックスと、目的のWB用抗体のみを検出するためのHRP標識試薬が含まれています。

目的のバンドがIP抗体のH鎖もしくはL鎖に近い場合や、発現レベルが低いために通常のウェスタンブロットでは検出困難な細胞内タンパク質を検出する際に、特におすすめします。

構成内容

- 免疫沈降マトリックス (25% v/v) ; 2.0ml
 - WB用HRP標識プローブ ; 200µg
- 希釈倍率は1 : 1,000~1 : 10,000を目安にご使用ください。

解析結果例

A : HeLa細胞溶解液より抽出したActinとGoat抗Actinポリクローナル抗体 (品番#SC-1616) を使用し、免疫沈降を行った後、Goat抗Actinポリクローナル抗体 (品番#SC-1615) 及びHRP標識Donkey抗Goat IgG抗体を用いてWBを行った。

B : ExactaCruz™ D (品番SC-45041) を使用してIP/WBを行った。
AではH鎖とL鎖が見られるが、Bでは検出していない。

【メーカー：SCB】

品名	WB抗体免疫動物種	IP抗体免疫動物種	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ExactaCruz™ A	Goat	Rabbit or Mouse	SC-45038	1キット	¥ 26,000	毒	冷
ExactaCruz™ B	Mouse	Goat or Rabbit	SC-45039	1キット	¥ 26,000	毒	冷
ExactaCruz™ C	Rabbit	Goat or Mouse	SC-45040	1キット	¥ 26,000	毒	冷
ExactaCruz™ D	Goat	Goat	SC-45041	1キット	¥ 26,000	毒	冷
ExactaCruz™ E	Mouse	Mouse	SC-45042	1キット	¥ 26,000	毒	冷
ExactaCruz™ F	Rabbit	Rabbit	SC-45043	1キット	¥ 26,000	毒	冷

ProteoJET™ キット

高効率で簡単にタンパク質抽出が可能！

背景

本キットで抽出したタンパク質は、タンパク質量、1D・2D電気泳動、免疫沈降、ウェスタンブロット、EMSA、酵素活性、レポーター遺伝子アッセイに使用できます。

細胞質/核タンパク質抽出キット

使用目的

哺乳類の培養細胞や組織から簡単に細胞質・核タンパク質を抽出できます。本キットには、50 μ lの細胞ペレット(ウェット状態)もしくは100mgの組織サンプルを用いた場合、50回分の試薬が含まれています。

特長

- 多用途：同一細胞あるいは組織サンプルから核・細胞質タンパク質を抽出できます。
- 高品質画分：細胞質及び核画分間のコンタミネーションはありません。
- 迅速：1時間以内で抽出ができます

構成内容

- Cell Lysis Buffer
- Nuclei Washing Buffer
- Nuclei Storage Buffer
- Nuclei Lysis Reagent
- 1M DTT

図1. SDS-PAGE
細胞質タンパク質10 μ g、核タンパク質5 μ gを12%SDS-PAGEで分け、Page Blue™タンパク質染色液で染色した。
1：Jurkat細胞由来の細胞質タンパク質
2：Jurkat細胞由来の核タンパク質
3：HeLa細胞由来の細胞質タンパク質
4：HeLa細胞由来の核タンパク質

図2. EMSA (electrophoretic mobility shift assay)
*AP-1転写因子結合配列をもつDNAに[γ 33-P]標識したものを
1：タンパク質なし
2：Cos7細胞由来の細胞質タンパク質
3：Cos7細胞由来の核タンパク質
4：NIH3T3細胞由来の細胞質タンパク質

図3. 細胞質および核タンパク質画分のウェスタンブロット
細胞質タンパク質5 μ g、精製した核10 μ gを12%SDS-PAGEで分け、細胞質タンパク質であるチューブリンおよび核タンパク質であるヒストンH4を各抗体で検出した。
1：Jurkat細胞由来の細胞質タンパク質
2：Jurkat細胞由来の核タンパク質
3：HeLa細胞由来の細胞質タンパク質
4：HeLa細胞由来の核タンパク質

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ProteoJET™ Cytoplasmic and Nuclear Protein Extraction Kit	K0311	50回分	¥26,000		☼

【メーカー：FER】

膜タンパク質抽出キット

膜タンパク質と細胞質タンパク質の分離精製に

特長

- 高収量：活性を保持した未変性タンパク質を高収量で抽出
- 高品質：膜および細胞質タンパク質画分のクロスコンタミネーションはありません。
- 迅速かつ簡単操作です。

使用目的

哺乳類細胞(浮遊・培養)や組織サンプルから膜タンパク質を効率よく分離します。

C：細胞質タンパク質、m：膜タンパク質
細胞質でGFPを発現するプラスミドと膜でRFPを発現するプラスミドをHeLa細胞に導入した。ProteoJET™、他社製品A、他社製品Bでタンパク質を抽出した後、未変性電気泳動を行い、蛍光顕微鏡で観察した。ProteoJET™のみが膜タンパク質と細胞質タンパク質を分離することができた。

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ProteoJET™ Membrane Protein Extraction Kit	K0321	50回分	¥66,000		☼

【メーカー：FER】

トータルタンパク質抽出キット

室温でトータルタンパク質の抽出が行えます！

使用目的

本キットには100 μ lの細胞ペレットサンプル(ウェット状態)で125回、100mgの組織サンプルで500回分の試薬が含まれています。

特長

- 高収率：哺乳類の培養細胞・組織サンプルからトータルタンパク質を抽出できます。
- Ready-to-use
- 便利：室温で操作可能
- Easy-to-use：ソニケーションや凍結融解サイクルが不要

図1. トータルタンパク質抽出
様々な細胞 (A) およびマウス組織 (B) からタンパク質を抽出し、12%SDS-PAGEで分け、Page Blue™タンパク質染色液で染色した。
A 1: HEP2C細胞、2: ヒト初代線維芽細胞、3: NIH3T3細胞、4: HEK293細胞、5: Cos7細胞、6: HeLa細胞、7: B50細胞、8: CHO細胞、9: Raji細胞、10: Jurkat細胞
B 11: 肝臓、12: 腎臓、13: 脾臓、14: 肺、15: 筋肉

図2. 5x10⁶細胞から抽出したトータルタンパク質の収率

【メーカー：FER】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ProteoJET™ Mammalian Cell Lysis Reagent	K0301	250ml	¥35,000		☉

ProteoExtract™ キット

細胞分画キット S-PEK

動物細胞から細胞質・膜・核・骨格に4ステップで分画抽出！

特長

- 動物細胞のプロテオームを4つの画分に分画します。
- 超遠心を行う必要はなく、操作時間は約2時間です。
- 高い再現性があります。
- 機能を保ったタンパク質も得られます。
- 微量タンパク質の検出、及び細胞内局在の移動を検出できます。
- 得られたタンパク質は、二次元電気泳動にも使用可能です。

実験例

転写因子NF- κ Bの核内移行を追跡した例

TNF α で刺激したA431細胞において、転写因子NF- κ Bが刺激後に核に移行するタイムコースを解析。各バーはS-PEKキットで分画した細胞質・膜/オルガネラ・核・細胞骨格画分を抗NF- κ B (p65, RelA) 抗体でイムノブロット定量した結果を示す

操作手順

タンパク質の局在性分画例

SAOS2細胞株を分画し、各タンパク質がどの画分に存在するかをウェスタンブロッティングにより調べた

【メーカー：CBC】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ProteoExtract™ Subcellular Proteome Extraction Kit (S-PEK)	539790	1キット	¥ 74,800		☉

可溶性分画キット P-PEK

使用目的

細胞タンパク質を、可溶性の違いによって4段階に抽出するキットです。細胞のタンパク質を段階的に可溶化し、数倍に濃縮した形で得ることができます。各キット20回分です。

P-PEKを用いた、細胞からのタンパク抽出手順
不溶性のタンパク質は後のフラクションに回収される

【メーカー：CBC】

品名	適用	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ProteoExtract™ Partial Mammalian Proteome Extraction Kit (P-PEK)	動物細胞用	539789	1キット	¥ 70,000		☉

ホールクルード抽出キット C-PEK

使用目的

抽出バッファーを加えて遠心するだけで一度に細胞の総タンパク質を抽出できるキットです。得られたタンパク質は高純度で、2次元電気泳動、フリーフロー電気泳動、または抗体による検出に使用できます。各キット20回分です。

C-PEKを用いて得られるタンパク質は高純度で、2次元電気泳動で高い解像度を示す

C-PEKを用いた、細胞からの全タンパク抽出手順
1種類の抽出バッファーを用いてほとんどのタンパク質を可溶化することが可能

【メーカー：CBC】

品名	適用	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ProteoExtract™ Complete Mammalian Proteome Extraction Kit (C-PEK)	動物細胞用	539779	1キット	¥ 61,200		☉

膜貫通型タンパク質抽出キット TM-PEK

待望の7回膜貫通型タンパク質抽出キット

背景

ProteoExtract® 膜貫通型タンパク質抽出キットは、哺乳動物細胞または組織から膜貫通型タンパク質を穏やかに、かつ効率的に抽出するキットです。界面活性剤を使用しません。

創薬で最も注目されるGPCR(Gタンパク質結合レセプター)や、7回膜貫通型タンパク質の抽出をターゲットとして開発されました。得られたタンパク質は、酵素活性測定や未変性ゲルでの電気泳動、ウエスタンブロットなどの様々なアッセイに使用可能です。

使用目的

抽出後のアプリケーション

- 一次元、二次元電気泳動
- 免疫沈降
- ELISA
- ウエスタンブロット
- 酵素活性測定
- MS解析

構成内容

- Extraction Buffer 1
- Extraction Buffer 2
- TM-PEK reagent A
- TM-PEK reagent B
- プロテアーゼインヒビターカクテル

操作方法

細胞またはホモジナイズした組織にExtraction Buffer1を加え、膜透過処理をして、遠心分離により、細胞質画分と膜(不溶化)画分とに分けます。膜画分にExtraction Buffer2とTM-PEK reagentAまたはB*を混合したものを加え、膜タンパク質を可溶化します。

* 抽出する目的タンパク質の性質によりA,Bどちらかを選択することができます。

- ・TM-PEK reagentAはとてもマイルドな可溶化剤ですので、壊れやすく複雑なタンパク質抽出にきてしています。
- ・TM-PEK reagentBは、抽出しにくい複数回膜貫通型のタンパク質抽出に適しています。
- ・初めてご使用の際は、両方のバッファーで抽出効率をお試しいただくことをおすすめします。

図1 操作方法

図2 ウエスタンブロットによる比較

MDA MB 486 ヒト乳癌細胞からの抽出例。

- 1: SDSによる可溶化画分
- 2: 細胞質画分
- 3: Triton-X100
- 4: TM-PEK

従来抽出の難しいといわれていた7回膜貫通型タンパク質を抽出可能。1回膜貫通型でも抽出可。

図3 膜貫通タンパク質のウエスタンブロットによる解析

- 1: マーカー
- 2: 細胞質画分(Buffer 1により抽出)
- 3: SDS
- 4: Triton X-100
- 5: Extraction Buffer2+TM-PEK reagentA
- 6: Extraction Buffer2+TM-PEK reagentB
- 7: マーカー

図4 アルカリホスファターゼの活性測定

TM-PEKを使って、膜画分に抽出されたアルカリホスファターゼの活性を測定

【メーカー：NVG】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ProteoExtract® Transmembrane Protein Extraction Kit (TM-PEK)	71772-3	1キット	¥ 75,900		☺

膜タンパク質抽出キット M-PEK

使用目的

膜タンパク質を簡単な操作で、機能を保持したまま抽出するキット。抽出は疎水性ではなく、細胞膜との結合に基づいています。サンプルは機能アッセイや二次元電気泳動などの用途に適しています。3-5×10⁶ 細胞からの抽出20回分。2段階のシンプルな操作で動物細胞から膜タンパク質を抽出できます。得られた膜画分には膜タンパク質が3-5倍に濃縮され、構造、機能を保持しており、活性測定にも使用できます。組織からの抽出も可能です。面倒な超音波処理や超遠心の操作は不要です。多検体を処理するのにも適しています。20回分です。

特長

- 所要時間 1.5時間
- サンプル：動物培養細胞 (3-5×10⁶ cells)
組織 (25-50mg)
- 目的：1次元/2次元電気泳動・免疫沈降・ELISA・Western Blotting・活性測定・SELDI

【メーカー：CBC】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ProteoExtract™ Native Membrane Protein Extraction Kit	444810	1キット	¥ 68,000		☼

タンパク質濃縮キット

使用目的

タンパク質の沈殿・クリーンアップ用の簡便で再現性の高いキットです。従来の方法よりタンパク質の沈殿量が増加し、沈殿したタンパク質の溶解度が向上します。200μl以下の試料の沈殿200回に十分な成分が含まれています。150 mlのエタノールが必要です (非付属品)。

特長

- 細胞分画キット (S-PEK) やアルブミン・IgG除去キットで得られたタンパク質溶液の濃縮に最適。
- その他PEKキットシリーズと対応試験済み。
- 濃縮したタンパク質が溶けやすい工夫。
- 収率よく、再現性が高い。
- 200μlの溶液の濃縮200回分。

【メーカー：CBC】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ProteoExtract™ Protein Precipitation Kit	539180	1キット	¥ 49,300		☼

血清アルブミン・グロブリン除去キット

使用目的

血清アルブミンは血清総タンパク質量の55%、IgGは10-25%を占めます。これらのタンパク質を除くことで血清中タンパク質の約75%を除去することになり、他のタンパク質の視覚化や解析が容易になります。各キット12回分です。

特長

- アルブミンとIgGを除くことで存在量の少ないタンパク質の視覚化が可能に。
- 高い特異性。非特異的吸着はほとんどなし。
- 2次元電気泳動や液体クロマトグラフィーにタンパク質を濃縮してかけられる。
- 所要時間は20~30分。
- 同時に複数サンプルを並行処理できるカラム形式。
- ウサギ、マウス、ラットのサンプルにも適用可。

樹脂の結合許容量はカラム1本あたりIgG0.7mgとアルブミン2mgです。他の血清タンパク質はほとんど吸着せず、80%以上のアルブミンとIgGだけを除去できます

【メーカー：CBC】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ProteoExtract™ Albumin Removal Kit	122640	1キット	¥ 34,100		☼
ProteoExtract™ Albumin Removal Kit, Maxi	122641	1キット	¥ 54,400		☼
ProteoExtract™ Albumin/IgG Removal Kit	122642	1キット	¥ 39,600		☼
ProteoExtract™ Albumin/IgG Removal Kit, Maxi	122643	1キット	¥ 62,000		☼

ProteoSpin™エンドトキシン除去キット

特長

- タンパク質、ペプチドのエンドトキシン除去 - ProteoSpin™ Endotoxin Removalキットは0.01EU/μg以下にエンドトキシンレベルを減らします。
- 迅速で簡単な過程-easy-to-useプロトコールを利用することで多様なサンプルにおいて、20分~30分で効果的なプロセッシングが可能です。
- 高回収率 - 95% 以上の高回収率
- 回収したタンパク質はその後のアプリケーションに最適-精製したタンパク質は*in vivo*や*in vitro*の実験及びモノクローナル抗体の作成に適しています。

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ProteoSpin™ Endotoxin Removal Maxi Kit - For Proteins and Peptides	22200	1キット	¥30,000	☉	☉
ProteoSpin™ Endotoxin Removal Micro Kit - For Proteins and Peptides	22800	1キット	¥50,000	☉	☉
ProteoSpin™ CBED Micro Kit	10100	1キット	¥58,000	☉	☉
	10400	1キット	¥81,000	☉	☉
ProteoSpin™ CBED Maxi Kit	17000	1キット	¥25,000	☉	☉

【メーカー：NOG】

タンパク質定量解析用キット SERVA ICPL™ Triplex Kit

プロテオーム研究におけるタンパク質の

定量質量解析に！

背景

ICPL™ キットは、安定したアイソトープ標識をマススペクトルと組み合わせることにより、タンパク質混合複合体中の1000種類ものタンパク質を同定・定量するためのパワフルなキットです。

この方法は、タンパク質の定量を正確かつ高い再現性で行うことのできる唯一の方法で、翻訳後修飾されたタンパク質やアイソフォームの解析にもお使いいただけます。

特長

ICPL™ Triplexキットは、他のタンパク質標識技術に比べ2次元電気泳動やEMSI-MS, MALDI-MSを用いた多次元LC-MSに適応しています。

構成内容

チューブの色で試薬を簡単に確認できます。

- ¹²C-Nic試薬 (紫) in DMSO, 22μl
- ²D-Nic試薬 (橙) in DMSO, 23μl
- ¹³C-Nic試薬 (黒) in DMSO, 22μl
- 停止液 1 (緑), 200μl
- 還元溶液 (黄) in TCEP, 200μl
- アルキレーション試薬 (青)
[Jodoacetamide], 6 × 14.8ml
- 停止液 2 (赤) [Hydroxylamine], 200μl
- ライシスバッファー (白)
[Guanidine-HCl], 10ml
- 溶液バッファー (白), 1.5ml
- プロテインミックスL (白), 20μl凍結乾燥
- プロテインミックスM (白), 20μl凍結乾燥
- プロテインミックスH (白), 20μl凍結乾燥

構成内容

- Binding Buffer
- Activation and Wash Buffer
- Elution Buffer
- Endotoxin Removal Solution
- Neutralizer
- Spin Columns (assembled with collection tubes)
- Elution Tubes (1.7ml)
- Product Insert

適用

- 定量的プロテオーム解析に
 - マススペクトルにおける検出のための、新規のタンパク質標識方法として
 - 翻訳後修飾の解析に
 - アイソフォームの解析に
- ※詳細は、セルバ社ウェブ上より“Technical Notes”をご覧ください (<http://www.serva.de/>)

ICPL™試薬の構造

標識の有無 (¹²C/¹³C) の質量の違いは、修飾されたアミノ基 [Lys+タンパク質N末端 (Δm=6.0204Da)] あたり105.0215Daから114.0419Da

ICPL™ Triplex-Workflow

この方法はA. Schmidt, J. Kellermannと F. Lottspeich (Proteomics 2005, 1,4-15) によって開発され、TOPLAB GmbH, Martinsried (www.toplab.de) に認可を受けています。

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
SERVA ICPL™ Triplex Kit	39231	1キット	¥607,000	☉	☉

※quadruplexキットも取扱いがございます。ご照会ください。

関連商品

上記Triplex kitの²D-Nic試薬 (橙) を含まないキットです。

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
SERVA ICPL™ - Kit	39230	1キット	¥456,000	☉	☉

タンパク質定量化キット Bradford ULTRA

1%以下の界面活性剤環境下で使用できる

タンパク質定量キット

背景

Bradford ULTRAは、迅速かつ簡単にCoomassie® ベースの比色定量法でトータルタンパク質を定量するためのキットです。

1%までの界面活性剤環境下で定量できるため、タンパク質調製時に用いる界面活性剤の存在を気にする必要がありません！

※Coomassie® は、Imperial Chemical Industries PLCの登録商標です。

特長

- 1%以下の界面活性剤環境下で使用可能
- 結果の安定性
 - －他社品と比べて、タンパク質間のばらつきが少ない
- Ready-to-use
 - －溶液の準備や最適化が不要

【メーカー：NVXI】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Total Protein Quantitation Kit, Bradford ULTRA	BFU05L	500ml	¥40,000		☉
Total Protein Quantitation Kit, Bradford ULTRA, Trial Size	BFUT	25ml	¥4,000		☉

ProLite™ タンパク質定量キット

使用目的

本キットは発光を利用してタンパク質を検出するキットです。一般的なBCAよりもダイナミックな範囲をもつ水溶性色素分子タンパク質センサーを使用しています。BCAやLowry法のような検出方法とは違って、重金属イオンを使用していません。タンパク質・色素分子複合体の最大波長は600nm以上です。

600nmにわたる強い吸収を持つ生体分子は少ないため、バックグラウンドが最少です。加えて、本キットはタンパク質抽出に用いられる一般的な変性剤にも適応しています。タンパク質検出範囲は、BSAで 50µg/ml～5000µg/mlです。

【メーカー：ABDI】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ProLite™ Colorimetric Protein Quantitation Kit *5-500µg/ml Dynamic Range*	10001	1キット	¥18,000		☉
ProLite™ Fluorimetric Protein Quantitation Kit *10-1000µg/ml Dynamic Range*	10002	1キット	¥18,000		☉

BCAタンパク質定量キット

使用目的

ピシニコニン酸 (BCA) 試薬を使ったタンパク質定量を行うための試薬セットです。従来のLowry法等に比べて、希釈やろ過などの操作を必要とせず、簡単な操作で短時間にタンパク質の定量を行うことができます。また、他のタンパク質定量法で干渉作用を及ぼす多くの物質の存在下でも高感度で再現性のある結果が得られます。

【メーカー：NVGI】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
BCA Protein Assay Kit	71285-3	500アッセイ	¥22,500		☉

他のタンパク質濃度測定法との比較

測定方法	迅速性	還元剤	界面活性剤	キレート剤 (EDTAなど)	アミン (Tris, imidazole, Cys, Trp, Tyr)
Bradford	○	○	×	○	○
Bradford ULTRA	○	○	○	○	○
BCA	×	×	○	×	×

構成内容

- Prolite™ protein sensor 500X (10x0.1 ml)
- Assay Buffer 10X (50ml)
- BSA standard

構成内容

- BCA Reagent A：炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、BCA検出試薬および酒石酸ナトリウムを含む0.1M水酸化ナトリウム溶液
- BCA Reagent B：4%硫酸銅（五水和物）溶液
- Albumin Standard：2mg/ml溶液

Picotan[®]/Picotein[®] 微量タンパク質検出試薬

ピコグラム (pg) レベルの微量タンパク質の検出

使用目的

Picotan[™]/Picotein[™] 商品群はタンパク質をpgレベルで検出する方法で、高感度にタンパク質を検出することができます。抗DNP抗体はタンパク質などの高分子物質に結合したDNPのみを認識して結合するためFreeのDNPIには反応しません。Activated DNPでDNP化したタンパク質を一次抗体としてRabbit Anti DNP (IgG)、更に標識二次抗体を至適希釈率で反応させると10~100pgのタンパク質を限度として全てのタンパク質を検出できます。またHRP標識Anti DNP (IgG) を用いると1~10pgのタンパク質を限度として検出できます。

Picotan/Picoteinの実用例

A. ドットプロットによる検出

- 通常のタンパク質測定法で検出できない微量タンパク質サンプルの定量
- 環境中に存在するタンパク質の検出

ドットプロットによる微量タンパク質の検出法

通常の方法で検出できない微量タンパク濃度サンプルの定量法

1. 10 μ g BSA/ml、1 μ g SA/ml、0.1 μ g SA/ml、タンパク質サンプル溶液各10 μ lをLP-0101 Activated DNP 10ずつとフタ付小チューブの中でマイクロピペッターを用いて良く混和する。37 $^{\circ}$ C 1時間静置反応後、20% MtOH溶液になるようにMtOHを加えPVDFメンブランに2 μ lずつ2倍希釈でドットプロットして検出した。
2. PVDFメンブランは事前にMtOHに浸し、さらに5分間DWに浸しておく。
3. 完全に乾燥する前に2 μ lずつスポットする。メンブランに水分が多いとスポットが流れてしまい好ましくない。
4. ドットプロットしたPVDFメンブランは完全に乾燥してからMeOHに浸す。
5. HRP標識Anti DNP (IgG) 抗体を用いて検出をする。2,000倍希釈、室温1時間反応。
6. 化学発光基質Lumi-Light PLUS (Roche Diagnostics) に5分間浸す。
7. ECLカメラにて撮影する (図1)。

(参考) 非DNP化タンパク質サンプルもドットプロットし、内因性のPeroxidase活性の確認も行ってください。但し、上述の濃度範囲では活性が検出されることはありません。また、2倍希釈によるドットはあくまで参考で、通常の実験では2~3段階スポットで充分です。

図1

B. 電気泳動後ウェスタンブロットによる検出

- 組換えDNAなどにより生産したタンパク質の純度検定
- 精製タンパク質、合成ペプチドなどの純度検定
- 無血清・無ホルモン培養したコンディションメEDIUMの微量タンパク質の検出
- 微量で発見が困難であった未知タンパク質の検出

DNP 化タンパク質のウェスタンブロットによる検出法

一次抗体にLP-2001、二次抗体にHRP標識Anti Rabbit IgGを用い、化学発光基質 (Lumi-Light PLUS) でバンドを検出した (図2)

図2

[メーカー : LSL]

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Picotan/Picotein Activared DNP	LP-0101	1ml	¥20,000		☉
Picotan/Picotein Anti DNP-IgG	LP-2001	1mg	¥30,000		☉
Picotan/Picotein Anti DNP-IgG (HRP標識)	LP-6011	0.1mg	¥30,000		☉

WEST-one™ ウェスタンブロット検出システム

スプレーするだけのウェスタンブロット試薬

使用目的

スプレータイプのウェスタンブロット検出システムです。試薬の調製が不要で、PVDF膜にスプレーするだけです。ニトロセルロース膜やナイロン膜にもお使いいただけます。

また、ドロップ形式のノズルタイプも追加されました。
※シグナルが強すぎる場合は、蒸留水で希釈してお使いください。

パネルA：WEST-one™ キットとパネルB：A社の商品で、感度と安定性を比較。A社では、混合した試薬の活性が5～10日後には落ちているのに対し、WEST-one™ キットを用いた場合は、16週間後も活性が保たれている(12ヶ月まで確認済み)。各レーンのタンパク質量は右から20、10、5、2μg。

プロトコール

膜にスプレーして1分間インキュベーションします。余分な検出試薬を除去して膜をラッピング。その後、膜をX線フィルムに露光します。

WEST-one™ と他社G製品の露光時間とシグナル検出の比較
●抗原：BSA (50μg)
●メンブレン：PVDF
●二次抗体希釈率：1/ 8,000 (レーン1)、1/ 16,000 (レーン2)、1/ 32,000 (レーン3)、1/ 64,000 (レーン4)

【メーカー：INB】

品名	タイプ	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
WEST-one™ ウェスタンブロット検出システム WEST-one™ Western Blot Detection System	スプレー	16031	100ml	¥9,500		☉

Review™ Stripping & Reprobing Buffer

抗体を除去し、貴重なサンプルを同じプロットで
リプロービング

特長

- 一貫性：
同じサンプル/プロットに特異的な異なる抗体を検出できます。
- 経済的：
同じプロットで様々な抗体プローブを使えます。
- 高品質：
バックグラウンドを抑え、クリアな結果が得られます。

【メーカー：AMR】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Review™ Buffer Solution	N166	1 ℓ	¥12,000		☉

リサイクリングキット

使用後のメンブレンが、15～30分で再利用可能に！

特長

- 室温で操作できます。
- メルカプトエタノールの刺激臭はありません。
- 剥離溶液は10倍希釈のReady-to-useです。10～15分メンブレンを浸しておくだけです。
- キット内に含まれているブロッキングバッファーで短時間インキュベーションして、15～60分後にはメンブレンの再利用が可能になります。
(注) 化学発光検出用です。発色検出にはお使い頂けません。

【メーカー：ALP】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
ウェスタン ブロットング リサイクリング キット Western Blot Recycling Kit	90100	1キット	¥59,000		☉

Western-Re-Probe™

使用目的

Western-Re-Probe™ 試薬はメンブレンに結合した抗原の結合力を損なうことなくメンブレンから抗体を除去することができる試薬です。抗体を除去することで、化学発光物や、放射性物質も同時にプロットから除去されます。そして除去後のプロットは新しいプローブで再度プロットすることができます。

特長

- ウェスタンプロットを種々のプローブで解析することができます。
- 貴重なサンプルや試薬を節約できます。
- ウェスタンプロットの再調整や再解析が可能です。
- 時間を節約できます。

【メーカー：CBC】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Western-Re-Probe™	WB59	100ml	¥31,400		☉

ウェスタンブロット除去試薬 "BlotFresh™"

使用目的

化学発光やアイソトープで検出したWestern BlottingのPVDF/nylon膜から抗体を除去する試薬です。

特長

他社製品によるNIH 3T3細胞由来のトータルAktのウェスタンブロット除去と同一抗体でのリプロットの比較

他社商品によるβ-actinの抗原抗体複合体除去の比較

ブロットは、10秒間β-actin抗体でプローブされた。それからブロットは本試薬で5分、Pierce社のRestore™ Stripping Bufferで15分間それぞれ処理をした。洗浄後、除去効果はWestern Blotting検出システムECL Plus™ でテストされた。本試薬はPierce社のRestore™ Stripping Bufferよりも効果的に抗原抗体複合体を除去できていることがわかる。

【メーカー：SGL】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
BlotFresh™ Western Blot Stripping Reagent (Ver. 2)	SL100324-L	500ml	¥27,000		☉
	SL100324-S	125ml	¥8,000		☉

リバーシブルタンパク質検出 キット ZipT™

バンドを染色せずにバックグラウンドを染色！？

使用目的

Zip™ リバーシブルタンパク質検出キットは、ポリアクリルアミドゲル上のタンパク質を染色する方法を逆にしたキットです。Zip™ でゲルのバックグラウンドを染色すれば、染色されていないバンドが透明のまま半透明になります。ダウンストリームアッセイに先立ってバンドの解像度を確認するのに画期的なキットです。

構成内容

本キットには25～50枚のミニゲルを染色することができる試薬量が含まれています。

- 染色溶液 (10×)、250ml
- 還元溶液 (10×)、250ml
- 現像溶液 (10×)、250ml
- 平衡溶液 (10×)、250ml

【メーカー：AMR】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Zip™ Reversible Protein Detection Kit	M277	1キット	¥38,000		

脱銀染色キット SILVERSUBTRACT™

5分以内の脱銀染色

使用目的

染色過多、染み、fingerprintedゲルなどゲルを再現する必要がある場合に本キットを用います。一般的な銀染色物を5分以内で取り除きます。ゲルは、バックグラウンドを増加せずさらにバンドを欠かすことなく脱染色します。本キットは、あらゆる銀染色に対応しています。

特長

- 簡単：溶かして混ぜて使うだけ
- 迅速：5分以内で脱染色可能
- 銀イオンによってゲル内酵素消化阻害やMALDI-MS解析、質量分析などのダウンストリームアッセイと互換性があります。

銀染色キットSilver BULLit™ を用いて分子量マーカーを銀染色したものをSilver Substract™ を用いて脱染色した。15% NEXT GEL™ (品番:M258)に分子量マーカーを流し、Silver BULLit™ を用いて銀染色した(A)。そのゲルを本試薬を用いて脱染色したものの(B)。

【メーカー：AMR】

品名	品番	包装	希望販売価格	毒劇	貯蔵
Silver Substract™	M322	1キット	¥12,000		

Proteome Profiler™ Array

引用

- ・データシート(品番ARY001)
- ・Troubleshooting Guide : Human Phospho-RTK Array Kit
- ・Human Phospho-RTK Array Kit FAQ

R&D Systems Inc.
メーカー略号 : RSD

商品

- ・Human Phospho-RTK Array Kit(品番ARY001)
- ※商品案内17ページ参照

Cosmo Bio would like to acknowledge and thank R&D Systems Inc. for providing Proteome Profiler™ Array information presented here.

1 プロトコール

必要なもの

※下記の試薬・器具はキットには含まれていません。キットの構成内容は商品案内ページを参照ください。

- ・Aprotinin(アプロチニン)
- ・Leupeptin(ロイペプチン)
- ・NP-40 (or NP-40 Substitute)
- ・Sodium Orthovanadate(オルトバナジウム酸ナトリウム)
- ・Sodium Chloride(塩化ナトリウム)
- ・Glycerol
- ・EDTA
- ・Tris Base
- ・ピペット及びピペットチップ
- ・純水または蒸留水
- ・ロッキングプラットフォームシェーカー
- ・プラスチックシートプロテクター
- ・プラスチックラップ
- ・オートラジオグラフィカセット
- ・フィルムディベロッパー
- ・X線フィルム(Kodak社, 品番1788207)または同等品
- ・Flat-tippedピンセット
- ・50mlプラスチック容器(アレイ洗浄用)
- ・フラットベッド・スキャナ
- ・Image analysis software 及び Microsoft Excel
- ・Chemiluminescent Substrate
- ・**NP-40ライシスバッファー** : 1% NP-40, 20mM Tris-HCl(pH8.0), 137mM NaCl, 10% glycerol, 2mM EDTA, 1mM sodium orthovanadate, 10 g/ml Aprotinin, 10 g/ml Leupeptin

1-1 サンプル調製(細胞ライセート)

ライシスバッファーを加える前に、PBSで細胞を洗浄し、PBSを完全に取り除きます。NP-40ライシスバッファーで、 1×10^7 cells/mlの濃度で細胞を溶解します。ピペティングして再懸濁し、2-8℃でゆっくり揺らしながら、30分間インキュベーションします。14,000×gで5分間遠心し、上清を新しい試験管に移します。この時、サンプルのタンパク質濃度をトータルプロテインアッセイで測定することをおすすめします。Human Phospho-RTK Arrayでのインキュベーションには、免疫沈降やウェスタンブロットに用いられるライセートと同じくらいの量(50-500µg)を使用します。ライセートはすぐに使用するか、分注して-70℃以下で凍結保存します。解凍したライセートは使用するまで、氷上に置いておきます。

1-2 試薬の調製

使用前にすべての試薬を室温に戻しておきます。

- ・Human Phospho-RTK Array : 42種類の異なる抗RTK抗体と6種類のコントロールが2スポットずつプリントされたニトロセルロースメンブレン4枚。アレイの取扱いはグローブ着用およびflat-tippedピンセットで行います。開封後、未使用のメンブレンは、乾燥剤を入れてアルミ箔で密閉すれば、2-8℃で3ヶ月保存可能です*。
- ・Anti-Phospho-Tyrosine-HRP標識 検出抗体 : HRP標識のマウス 抗リン酸化チロシン抗体1バイアル(700µg/ml)。この検出抗体は、使用する直前に70ng/mlに1× Array Buffer 2で希釈します。最初の使用から2-8℃で3ヶ月保存可能です*。

- ・ Array Buffer 1：希釈済。開封後、2-8℃で3ヶ月保存可能です*。
 - ・ 1× Array Buffer 2：2mlのArray Buffer 2濃縮液を8mlの純水または蒸留水で希釈します。使用することに、新しく調製します。
 - ・ 1× Wash Buffer：20mlのWash Buffer濃縮液を480mlの純水または蒸留水で希釈します。最初の使用から2-8℃で3ヶ月保存可能です*。
- *凍結厳禁！

1-3 アッセイプロトコール

使用前にすべての試薬を室温に戻し、氷上に置いておきます。

1. 上記の指示に従い、すべての試薬とサンプルを準備します。
2. 各アッセイのブロッキング用に、1.5mlのArray Buffer 1を4-Well Multi-dishの各ウェルに加えます。
3. 先端が平らなピンセットを用いて、保護シート間から使用する各アレイを取り出します。
4. 1つのアレイを4-Well Multi-dishの各ウェルに入れます。アレイナンバーが上向きになるように置きます。
注意：青色の色素がスポットから見えなくなりますが、捕捉抗体は特異的な位置に残っています。
5. ロッキングプラットフォームシェーカー上で1時間インキュベーションします。各アレイが、ウェルの端から端まで動くことができるように、正しい方向に置いてください。
6. ライセートを1.5mlになるように、Array Buffer 1で希釈します。
7. Array Buffer 1を4-Well Multi-dishから取り除きます。
8. 希釈したライセートを4-Well Multi-dishに加え、ふたをします。
9. 2-8℃で一晩、ロッキングプラットフォームシェーカー上でインキュベーションします(または室温で2時間インキュベーション)。
10. 各アレイを慎重に取り、最小限の1× Wash Buffer 20mlの入ったそれぞれのプラスチック容器に移します。4-Well Multi-dishを純水または蒸留水で洗浄し、完全に乾かします。
11. ロッキングプラットフォームシェーカー上で、各アレイを1× Wash Bufferに10分間浸すことにより洗浄します。さらに、この洗浄操作を2回繰り返し、計3回洗浄します。
12. 1.5mlの新しく調製した検出抗体を4-Well Multi-dishの各ウェルに加えます。
13. 各アレイを洗浄容器から慎重に取り、4-Well Multi-dishに戻し、ふたをします。
14. 室温で2時間、ロッキングプラットフォームシェーカー上でインキュベーションします。
15. 操作10および11と同様に、各アレイを洗浄します。
16. 各アレイを洗浄容器から慎重に取り、プラスチックシートプロテクター上に移します。各アレイを化学発光試薬に曝します。
17. プラスチックラップでカバーし、1-10分間X線フィルムに露出します。

1-4 データ解析

処理済フィルムに見られるポジティブシグナルは、アレイイメージの上に透明なオーバーレイを乗せることにより、すぐに同定でき、それを各アレイのコーナーにおけるポジティブコントロールスポットの4つのペアと調整します。

処理したX線フィルム上でのPhospho-RTK Arrayのデータは、トランスミッション-モードスキャナーで読み込み、イメージ分析ソフトウェアを用いてアレイイメージファイルを分析することにより、定量できます。

1. アレイの各スポットにおけるピクセル濃度を分析するテンプレートを作成します。
2. 各RTKスポットから平均的なバックグラウンドシグナルを差し引きます。バックグラウンドの値として、アレイの空いた場所からのシグナルまたは5つのネガティブコントロールスポットの1つを用います。
3. エクセル等のプログラム操作に、シグナルの値をスプレッドシートファイルに出力します。
4. 各RTKに現れたペアの平均シグナル(ピクセル濃度)を計算します。
5. サンプル間での特異的なRTKsの異なるチロシンリン酸化に相当するシグナルを比較します。

2 トラブルシューティングガイド

問題点	原因	対処法
ポジティブコントロールスポット上にシグナルがない・・・	HRP標識の抗リン酸化-チロシン検出抗体の濃度が低過ぎる	推奨濃度で再実験
リン酸化-RTKシグナルが低い・・・	サンプルの希釈率が高過ぎる	より高濃度の溶解液を使用する
	細胞株自体にあまり多くのRTKが存在しない	より高濃度の溶解液を使用する 異なる細胞株を試す
	調製中にサンプルが劣化した	プロテアーゼインヒビターおよびホスファターゼインヒビターを添加したライシスバッファーを使用する
	保存中にサンプルが劣化した	すべてのサンプルは-70℃以下で保存する 凍結-融解の繰り返しは避ける
	フィルムへの露出時間が短い	露出時間を長くする
	RTKsがチロシンをリン酸化しない	RTKがチロシンをリン酸化するように刺激した条件が最適化されていたかを検証する
ネガティブコントロールスポット上にシグナルが出る・・・	HRP標識の抗リン酸化-チロシン検出抗体の濃度が高過ぎる	推奨濃度で再実験
アレイのスポット以外の部分のバックグラウンドが不均一または高い	溶解液濃度が高過ぎる	溶解液を希釈する
	洗浄が不十分	プロトコールに従い、洗浄する
	HRP標識の抗リン酸化-チロシン検出抗体の濃度が高過ぎる	推奨濃度で再実験
	操作中にアレイが部分的に乾いてしまった	アレイは常に水(試薬)に浸しておく。空気中に出すのはできる限り短くする
あまりに多くのスポットがシグナルを出している・・・	アレイにしわや傷がついた	アレイはアレイナンバーを上にして、ピンセットで扱う
	洗浄が不十分	プロトコールに従い、洗浄する。4-Well Multi-dish以外は、大きな容器で洗浄する
	HRP標識の抗リン酸化-チロシン検出抗体の濃度が高過ぎる	推奨濃度で再実験
	溶解液濃度が高過ぎる	溶解液を希釈する

3 Human Phospho-RTK Array FAQ

Q-1：他のライシスバッファで調製しても大丈夫ですか？

このキットはNP-40 Lysis Bufferの使用により最適化されます。
したがって、他のライシスバッファを使用した場合、望ましいアッセイ結果が得られる保証はできません。

Q-2：フィルムなしの冷却CCDカメラのような画像収集システムの使用は可能ですか？

はい。ご使用の機器のプロトコールに従って、露出の長さを最適化してください。

Q-3：このメンブレンはストリップして再使用可能ですか？

いいえ。このアレイは一度しか使用できません。

Q-4：X線フィルムによる化学発光検出法に必要な露出時間は？

受容体チロシンキナーゼ(RTK)は細胞タイプごとに異なる密度で発現します。それらのチロシンリン酸化のレベルは、処理、処理時間および用いるRTK特異的リガンドの濃度によって変化するかもしれません。多重露出は各アレイ実験からできるだけ多くの情報を得るために行われます。露出時間は1-10分をおすすめします。

Q-5：検出抗体の濃度を変化させることで、感度を上げられますか？

HRP標識の抗リン酸化チロシン検出抗体の推奨濃度を使用してください。検出抗体の濃度を濃くすると、バックグラウンドが高くなる可能性があります。感度を上げるには、X線フィルムへの露光時間(5-10分)を延長してください。

Q-6：Phospho-RTK Arrayの感度は？

免疫沈降ウェスタンブロットよりも最高で20倍も高感度です。

Q-7：組織溶解液は使用できますか？

現在のところ、このキットは培養した細胞から調製した溶解液にのみ有効です。現在、R&D Systems社では、組織抽出液への適用を検討しています。

Q-8：テストにはどのようなサンプルを使用しますか？

すべての抗体は、リガンドで処理した培養細胞の抽出液またはチロシンがリン酸化されたリコンビナントRTKsを用いて慎重に選択されております。品質管理試験(QCテスト)は、リガンドで処理した培養細胞の抽出液を用いてロットごとに行っております。

Q-9：サンプル中に存在するtotal RTKsの相対量の測定にPhospho-RTK Arrayは使用できますか？

アレイ上の捕捉抗体は、リン酸化RTKs及び非リン酸化RTKsの両方を認識します。バナジン酸処理した細胞からの抽出液は細胞株に存在するtotal RTKsの相対量の測定に使用可能です。バナジン酸処理はRTKs上のリン酸化したチロシンを存続させるホスファターゼを不活性化します。

Q-10：アレイ上の捕捉抗体を用いて、免疫沈降ウェスタンブロットによりRTKに対するポジティブシグナルを確認したいのですが・・・？

Phospho-RTK Array上の捕捉抗体に関する情報は機密情報となります。しかしながら、R&D Systems社ではウェスタンブロットアプリケーションに有効なアレイ上の各RTKに対する抗体を販売いたします。HRP標識の抗リン酸化チロシン検出抗体もお使い頂けます(品番HAM1676)。

DuoSet[®] IC (IntraCellular) Assay ディベロップメントシステム

引用 R&D社
[ELISA Development Guide]

商品 ・ DuoSet[®] IC (Intracellular) Kinase Assay シリーズ
※商品案内は24ページ参照

R&D Systems Inc.
メーカー略号：RSD

Cosmo Bio would like to acknowledge and thank the R&D Systems Inc. for providing DuoSet information presented here.

1 ELISAプロトコール

必要なもの

※下記の試薬・器具はキットには含まれていません。キットの構成内容は商品案内ページを参照ください。

- ・ Aprotinin (アプロチニン)
- ・ Leupeptin (ロイペプチン)
- ・ Pepstatin (ペプスタチン)
- ・ Phenylmethylsulfonylfluoride (PMSF)
- ・ Sodium Orthovanadate (Na_3VO_4) (オルトバナジウム酸ナトリウム)
- ・ Sodium Pyrophosphate ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) (ピロリン酸ナトリウム)
- ・ Sodium Fluoride (NaF) (フッ化ナトリウム)
- ・ Triton X-100
- ・ Sodium Azide (NaN_3) (アジ化ナトリウム)
- ・ Urea (尿素)
- ・ ピペット及びピペットチップ
- ・ 純水または蒸留水
- ・ 96ウェルマイクロプレート (R&D Systems社, 品番DY990)
- ・ プレートシーラー (R&D Systems社, 品番DY992)
- ・ 浄瓶、分注器、マイクロプレート洗浄器など
- ・ **PBS** : 137mM NaCl, 2.7mM KCl, 8.1mM Na_2HPO_4 , 1.5mM KH_2PO_4 , pH7.2-7.4, 0.2 μm フィルター済
- ・ **Wash Buffer** : 0.05% Tween_20 in PBS, pH7.2-7.4 (R&D Systems社, 品番WA126)
- ・ **Block Buffer** : 1% BSA* in PBS (pH7.2-7.4) with 0.05% NaN_3
- ・ **IC Diluent #1** : 1% BSA* in PBS, pH7.2-7.4, 0.2 μm フィルター済
- ・ **IC Diluent #8** : 1mM EDTA, 0.5% Triton X-100, 5mM NaF in PBS, pH7.2-7.4
- ※IC Diluent #8 はIC Diluent #3, IC Diluent #7およびLysis Buffer #6の希釈溶液にもなります。およそ50 μm が1プレートのアッセイを行うに必要です。
- ・ **IC Diluent #3** : 1mM EDTA, 0.5% Triton X-100, 5mM NaF, 1M urea in PBS, pH7.2-7.4
- ・ **IC Diluent #7** : 1mM EDTA, 0.5% Triton X-100, 5mM NaF, 6M urea in PBS, pH7.2-7.4
- ・ **Lysis Buffer #6** : 1mM EDTA, 0.5% Triton X-100, 5mM NaF, 6M urea, 1mM sodium orthovanadate, 2.5mM sodium pyrophosphate, 25 g/ml Leupeptin, 25 g/ml Pepstatin, 100M PMSF, 3 g/ml Aprotinin in PBS, pH7.2-7.4
- ・ **Substrate Solution** : 1:1 mixture of Color Reagent A (H_2O_2) and Color Reagent B (Tetramethylbenzidine) (R&D Systems社, 品番DY999)
- ・ **Stop Solution** : 2N H_2SO_4 (R&D Systems社, 品番DY994)

※Serological Proteins Inc社の Bovine Serum Albumin, Fraction V, Protease-free (Cat. # 82-045) または Sigma社の Bovine Serum Albumin (Cat. # A7030) の使用をおすすめします。BSAを含む全てのバッファーは2-8℃で保存してください。

1-1 サンプル調製(細胞溶解液)

1. PBSで2回洗浄し、洗浄後PBSを含め残りをきれいに除去します。
2. 1×10^7 cells/mlの濃度になるように、Lysis Buffer #6で細胞を溶解します。
3. 短時間振動を与え溶解し、使用するまで室温に1時間静置、または-20℃で保存します。
4. サンプルタンパク質の濃度はトータルプロテインアッセイで定量します。

5. サンプルは使用前に、2000×gで5分間遠心し、上清を新しいチューブに移します。
6. アッセイ用に、溶解液をIC Diluent #8で6倍に希釈し、さらにIC Diluent #3を用いて希釈勾配を作ります。
※プレートに加える前の、全サンプル中の尿素の最終濃度は1Mとします。

1-2 プレート調製

1. 捕捉抗体(キャリアタンパク質不含)を使用濃度の2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ にPBSで希釈します。
2. 96ウェルマイクロプレートに100 $\mu\text{l}/\text{well}$ の希釈した捕捉抗体ですぐにコートします。
3. プレートにシールし、室温で一晩インキュベーションします。
4. 各ウェルを吸引し、Wash Bufferで洗浄操作を3回行います。
※各ウェルともWash Buffer(400 μl)がいっぱいになるように、浄瓶、分注器またはマイクロプレート洗浄器で洗浄してください。
※各ステップにおいて、洗浄時完全に不要液を除去することが大事です。
5. 最後の洗浄の後はプレートをよく吸引し、きれいなペーパータオルにプレートを置きます。
6. 各ウェルとも300 μl のBlock Bufferを加えてブロッキングします。室温で1-2時間インキュベーションします。
7. 洗浄操作を2回行います。この時点でサンプルを加えられる状態になります。

1-3 アッセイプロトコール

1. IC Diluent #3で希釈したサンプルまたはスタンダードを100 μl 各ウェルに加えます。ゼロスタンダードとして、IC Diluent #3を用います。プレートシーラーでカバーし、室温で2時間インキュベーションします。
※ 2倍の希釈勾配と20,000 pg/ml の高いスタンダードを用いた7ポイントのスタンダードカーブをおすすめします。
2. プレート調製の4. と同じように、洗浄操作を3回行います。
3. 検出抗体を使用濃度の0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ にIC Diluent #1で希釈します(使用前)。希釈した検出抗体100 μl を各ウェルに加えます。新しいプレートシーラーでカバーし、室温で2時間インキュベーションします。
4. 洗浄操作を2回行います。
5. 使用直前にStreptavidin-HRPをIC Diluent #1でキット毎に特異的な使用濃度に希釈します。希釈したStreptavidin-HRPを各ウェルに100 μl 加え、室温で20分間インキュベーションします(遮光)。
6. 洗浄操作を2回行います。
7. 各ウェルに基質溶液を100 μl 加え、室温で20分間インキュベーションします(遮光)。
8. 各ウェルに反応停止溶液を50 μl 加え、完全に混ざるように軽くプレートをたたきます。
9. 450nmにセットしたマイクロプレートリーダーを使用して、各ウェルの吸光度をすぐに測定します。波長の補正ができる場合、540nmまたは570nmにセットします。波長の補正ができない場合は、450nmのリーディングから540nmまたは570nmのリーディングを差し引きます。この減算はプレートにおける光学的欠点を補正します。補正をしない450nmの生データは値が高く、正確さを欠きます。

RT² Profiler™ PCRアレイプロトコール

引用 ・ データシート (RT² Profiler Array Systemユーザーマニュアル)

SABiosciences Corporation
メーカー略号: SPA

商品 ・ RT² Profiler Array
※商品案内26ページ参照

1 必要なもの

- A. RNA分離キット: プロトコール内RNA調製方法をご参照ください
- B. RT² First Strand Kit (品番: C-03) (必須)
- C. マスターミックス (必須)
お手持ちのリアルタイムPCR装置に適したマスターミックスを選んでください。

1. 96-ウェル PCR アレイ

RT ² SYBR Green/ROX qPCR Master Mix: ABI社装置、Stratagene社装置 Eppendorf Mastercycler® ep realplex、その他ROXフィルターつき装置	
品番	包装
PA-012	2アレイ用
PA-012-12	12アレイ用
PA-012-24	24アレイ用
RT ² SYBR Green/Fluorescein qPCR Master Mix: BioRad iCycler®, MyiQ®, iQ5 Instrumentation	
品番	包装
PA-011	2アレイ用
PA-011-12	12アレイ用
PA-011-24	24アレイ用
RT ² SYBR Green qPCR Master Mix: BioRad (MJ Research) Opticon, Opticon 2, and Chromo 4 Roche LightCycler® 480 System Eppendorf Mastercycler® ep realplex その他ROXフィルターなしの装置	
品番	包装
PA-010	2アレイ用
PA-010-12	12アレイ用
PA-010-24	24アレイ用

2. 384-ウェルPCRアレイ

各384-ウェルPCRアレイ (4アレイ入り) には、PCRアレイ装置に適したマスターミックスの2アレイ用商品が4個必要です。

3. PCR Array 384HT

PCR Array 384HT (2アレイ入り、4アレイ入り、12アレイ入り) には、PCRアレイ装置に適したマスターミックスが96ウェルプレート用の2倍量必要です。

D. 実験器具:

1. 上記表に示すような蛍光検出のサーマルサイクラー

NOTE: PCRアレイは96-ウェルまたは384-ウェルリアルタイムPCR装置でのみ使用可能です。このPCRアレイはホットブロックのフォーマットが異なるため、Cepheid SmartCycler®, the Roche LightCycler® 2.0、the Corbett Research Rotorgene.での使用はおすすめておりません。

2. 校正済みマルチチャンネルピペッター
3. RNase/DNaseフリーピペットチップおよびチューブ

2 補完商品

- A. RT² RNA QC PCR Array (オプション):
RNAサンプルのクオリティコントロール (QC) 用プレート
Human RT² RNA QC PCR Array (品番: PAHS-999X)
Mouse RT² RNA QC PCR Array (品番: PAMM-999X)
Rat RT² RNA QC PCR Array (品番: PARN-999X)

B. XpressRef™ ユニバーサルトータルRNA:	
PCR条件コントロール用ユニバーサルRNA	
Human XpressRef™ ユニバーサルトータルRNA	(品番: GA-004)
Mouse XpressRef™ ユニバーサルトータル	(品番: GA-005)
Rat XpressRef™ ユニバーサルトータル	(品番: GA-006)

3 プロトコール

実験を始める前にプロトコールをご一読ください。
RNAサンプルはRNase消化にセンシティブなので、グローブをご使用いただき、RNase-freeで実験を行ってください。

NOTE: マスターミックスとFirst Strand cDNA合成キットについて

SPA社のRT² Profiler PCRアレイの性能はSPA社のRT² qPCRマスターミックスおよびRT² First Strand Kitと併用した場合に限り保証しています。SPA社商品を組み合わせることで、正確かつ高精度なリアルタイムPCRプロファイリングデータを得ることができます。

RT² qPCRマスターミックスには、化学修飾して厳重にコントロールされたHotStart酵素と企業秘密の化学成分が含まれており、非特異増幅物やプライマーダイマーの形成を防止し、他に類を見ないほどより正確なSYBR Green結果を導きます。増幅が難しいとされる遺伝子についても高い増幅効率を保証しています。他社のマスターミックスとRT² Profiler PCRアレイとの組み合わせを試した結果、SYBR GreenベースリアルタイムPCR検出結果にプライマーダイマーや非特異反応が含まれていました。各リアルタイムPCR装置は標準化のために異なるreference dyeを用いていますので、ご使用の装置にあうマスターミックスをお使いください。

RT² First Strand KitはRNAサンプルに含まれるゲノムDNAのコンタミネーションを除くためのバッファーが含まれており、偽陽性シグナルの原因になる増幅物の産生を防ぎます。また、RT² Profiler PCRアレイ上にあるReverse Transcription Controls (RTC)はRT² First Strand Kitに含まれるbuilt-in external RNAから合成されたテンプレートを検出するプライマーが含まれています。このコントロール結果は他社の逆転写酵素やキットを使用したときには得られません。RT² First Strand Kitに含まれるバッファー組成とマグネシウム濃度は他社のマスターミックスよりもSPA社のマスターミックスに適合し、トータルRNA量ngからμgレベルの感度になります。

NOTE: DNAコンタミネーションフリーな作業スペースを確保してください。

再現性があり、正確なPCRアレイ結果を得るために、DNAのコンタミネーションを避けることがとても重要です。DNAのコンタミネーションは間違った遺伝子発現をもたらし、SYBR Greenシグナルを人工的につり上げ、偽陽性シグナルを検出することになります。最も一般的な原因は過去の実験による産生物が実験スペースに存在していることです。下記の方法に従って、DNAコンタミネーションフリーな作業スペースを保ってください。

1. 実験操作を行うときはグローブを使用してください。調製したのPCRグレード試薬(水)と実験器具(チップやチューブ)を使用してください。
2. PCRにかかる操作とPCR後やPCRとは関係ない操作を行うスペースを物理的に分けてください。PCRスペースと実験器具(チューブ、チップ、ラックなど)を使用前にUVライト(チミジンダイマーを形成させてコンタミしているDNAをPCR時に不活性化させる)もしくは10%漂白剤(化学的に不活性化させる)でコンタミ除去してください。
3. PCR産物の入ったチューブは操作のたびにふたをしってください。PCR産物や他のDNAを含む実験器具(チップやチューブ)は捨てる前に10%漂白剤で処理してください。
4. 使用する直前までPCRアレイプレートを手袋から出さないでください。長時間チューブやチップを出しっぱなしにしないでください。
5. 以前使用したPCRアレイプレートも保存しているPCRアレイプレートも開かないでください。8連キャップや接着フィルムをPCRアレイからははずすとPCR産物DNAを空气中に放出しコンタミの原因になり、次に行うリアルタイムPCRの実験に影響するかもしれません。

A. RNA調製とクオリティコントロール(QC):

高品質のRNAが良いリアルタイムPCR結果を得るために不可欠です。

どんな遺伝子発現解析を行う場合でも最も重要な前提条件は、一貫して各実験サンプルから高品質なRNAを調製することです。従って、サンプルハンドリングとRNA分離操作が実験の成功のために極めて重要です。タンパク質、塩、またはコンタミ物が残っていると、RNA分解や逆転写やリアルタイムPCRのための酵素活性を減少させるかもしれません。

1. 推奨RNA調製方法

リアルタイムPCR実験用の高品質なRNAのために、各サンプルについて下記の方法の何れかの方法で調製してください。

培養細胞サンプル: SPA社RT² qPCR-Grade RNA Isolation Kit (品番: PA-001) をご使用ください。

組織サンプル: two-stepのプロトコール。はじめに、MOR社TRI試薬(品番: TR-118)を用いて組織からRNAを抽出してください。必ず十分量のTRI試薬を使ってください。ホモジナイズの間、組織の体積の少なくとも

10倍量の試薬を加えてください。エタノール沈殿後、さらに精製するためにSPA社RT² qPCR-Grade RNA Isolation Kit (品番：PA-001)を用いてください。

血液サンプル：RNA調製前に密度勾配遠心用培地（例えば、AXS社 Lymphoprep、品番：1114544）を用いて全血から赤血球を除き、白血球細胞画分からRT² qPCR-Grade RNA Isolation Kit (品番：PA-001)を用いてRNA抽出してください。または、PAXgene Blood RNA Kit (Qiagen社 品番：762164)もまた、全血細胞からトータルRNAの抽出に使用可能です。

フェノールベースの方法を使用してトータルRNAを抽出：既にフェノールベースの方法を使ってRNAを調製済みの場合、必ずSPA社RT² qPCR-Grade RNA Isolation Kit (品番：PA-001)でRNAを精製してください。

その他サンプル：文献検索していただくか、SPA社へお問い合わせください。

本PCRアレイからベストの結果をだすために、全てのRNAサンプルはRNA isolation kitに添付されているRNase-freeの水か他のRNase-freeな10mM Tris buffer (pH8.0)に懸濁してください。DEPC処理した水は使用しないでください！

2. RNA Quality Control:

本PCRアレイからベストの結果をだすために、全てのRNAサンプルは下記の基準を満たしていることを確認してください。

a. 紫外分光光度法によるRNA濃度と純度

NOTE: 10mM Tris, pH 8.0 bufferに希釈して吸光度を測定してください。核酸のスペクトル特性はpHに高く依存します。

- i) A₂₆₀ : A₂₃₀ 比 : 1.7以上
- ii) A₂₆₀ : A₂₈₀ 比 : 2.0以上
- iii) A₂₆₀での濃度 : 4 μ g/ml total RNA以上

b. リボソームRNAの確認

RNA 6000 Nano LabChip[®]を用いたAgilent BioAnalyzerまたは変性アガロースゲルで電気泳動し、18Sと28S リボソームRNA (rRNA) のバンドまたはピークがはっきりと区別されていることを確認してください。スミアなバンドやピークがシャープでないとRNAサンプルで分解が起きていることを示しています。

図1.

コンタミネーションは単にRNAの品質を見ることによって検出することは難しく、紫外分光光度法では見落としますので、サンプルに適したRNA抽出方法を選択することが不可欠です。

c. RT² RNA QC PCR Array (オプション):

別売りのRT² RNA QC PCR ArrayをRT² First Strand Kitと組み合わせて使用していただくと、高発現/低発現のハウスキーピング遺伝子発現レベル、逆転写効率、PCR反応効率、ゲノムDNAコンタミネーションなどの複数のRNAクオリティコントロールパラメータを試験することができます。このアレイはRNA調製を初めてされる（経験の少ない）お客様へおすすめの商品です。

3. ゲノムDNAコンタミネーション:

ゲノムDNAのコンタミを削除、または最小限にすることはPCR Arrayを使用して最善のリアルタイム遺伝子発現プロファイリング結果を得るために不可欠です。各PCR ArrayのゲノムDNAコントロールはPCR反応ごとの各サンプルのDNAコンタミを試験します。GDCのthreshold cycle value (Ct値)が35未満だと、検討されるべきゲノムDNAのコンタミがあることを示します。

RT² qPCR-Grade RNA Isolation Kitを使用する際、DNase処理することをおすすめしています。SPA社RT² First

Strand Kit (品番C-03)には逆転写前のRNAサンプルから残ったゲノムDNAを除去する試薬が含まれますが、SPA社キット使用時にもDNase処理を推奨します。RT² qPCR-Grade RNA IsolationとRT² First Strand Kitを使用してもゲノムDNAのコンタミがありCt (GDC) < 35の場合、RNase-free DNaseを用いてRNAサンプルを再処理して、再精製したほうがいいかもしれません。Ambion社TURBO DNA-free™ kit(品番:AM1907)がおすすめです。ただし、製造元が推奨している酵素ユニット数やインキュベーション時間は2倍にするほうが確実にゲノムDNAを分解できると思われるます。

4. RNA量の確認：

本PCRアレイは1アレイ当たり25ngから5μgのトータルRNAを使って相対的遺伝子発現プロファイルを得ることができます。しかし、実験スタート時の最適なRNA量は興味のある転写物の想定存在量に依存します。転写物の存在量が少なければ必要なRNAは多くなり、転写物の存在量が多ければ必要なRNAは少なくなります。トータルRNAのインプット量が多くなるとポジティブな反応の数が多くなり、トータルRNAのインプット量が少なくなるとポジティブな反応が少なくなり、間違ったネガティブな反応が多くなります。

RT² First Strand Kit (品番：C-03)の使用は少量のトータルRNA (25ng)において検出するポジティブな反応の数を他の逆転写やfirst strand合成キットよりも最大にします。ポジティブな反応の割合を最大にして成果を上げるために、まずは、トータルRNA量0.5μg～1.0μgからスタートすることをおすすめしています。比較・同定したいひとつの実験用の全てのサンプルについていつも同じ量のトータルRNAを使用することが重要です。

B. RT² First Strand Kit (品番：C-03)

NOTE: SPA社RT² First Strand Kit (品番：C-03)を使用することはReverse Transcription Controls (RTC, Wells H7-H9)を検出し、PCRアレイのベストな結果を得るために重要です。

NOTE: RNA サンプルは前述の基準を満たすことが必須です。

1. ゲノムDNA除去混合液：

a. 各RNAサンプルごとに滅菌PCRチューブに下記の試薬を混合：

Total RNA	25.0ng～ 5.0μg
GE (5X gDNA 除去 Buffer)	2.0μl
RNase-free H ₂ O	final volume 10.0μl

NOTE: サンプルごとの反応液中のトータルRNA量は同じにしてください。トータルRNA量は、96wellプレートの場合、0.5-1.0μgから、384wellプレートの場合0.2-0.5μgからスタートしてください。トータルRNA量が100ngより少なくなると、間違ったネガティブな反応の割合が極端に増加します。

b. ピペッターで静かに混合した後、スピンドウン

c. インキュベート 42℃、5分間

d. 冷却 on ice 1分間

2. RT カクテルの調製：

RT Cocktail	1 reaction	2 reactions	4 reactions
BC3 (5X RT Buffer 3)	4μl	8μl	16μl
P2 (Primer & External Control Mix)	1μl	2μl	4μl
RE3 (RT Enzyme Mix 3)	2μl	4μl	8μl
RNase-free H ₂ O	3μl	6μl	12μl
Final Volume	10μl	20μl	40μl

3. First Strand cDNA合成反応：

- ・各10μlゲノムDNA除去混合液に10μl RTカクテルを加える
- ・よく混合、ただし、ピペッターを用いてゆるやかに。42℃、15分間インキュベート
- ・95℃、5分間加熱しRNAを分解し、逆転写酵素を不活性化
- ・各20μl cDNA合成反応液に91μl ddH₂Oを加えよく混ぜる
- ・次のステップまでon iceで保存、または、一晚保存するときは-20℃へ

4. RNAクオリティーコントロールチェック (オプション)：

必要に応じて、RT² RNA QC PCR Arrayで小分け (6μl) した希釈済みcDNAテンプレートのクオリティーを確認。残りは-20℃へ

C. Real-Time PCR:

NOTE: PCRアレイで最も正しい結果を得るためにSPA社RT² qPCRマスターミックスを使用してください。リアルタイム装置に適したマスターミックスを選んでください。

NOTE: PCRアレイプレートタイプが正しくないと、リアルタイムPCR装置にフィットせず、装置を損なうおそれがあります。リアルタイム装置に適したプレートタイプを選んでください。

NOTE: ピペティングの正確さ、精度が結果の一貫性を決定します。実験を始める前にマイクロピペッター全てを較正してください。PCR Arrayのウェルに泡が入らないことを確かめてください。

NOTE: 調製したRNAサンプルのクオリティーや調製方法に不安があればRT² RNA QC PCR Arraysを使用してクオリティーコントロールチェックができます。

1. 実験反応液の調製:

以下の成分を5mlチューブまたはマルチチャンネル容器に混合:			
プレートタイプ:	96-well A, C, D, & F	384-well E & G	384HT E & G
2X SuperArray RT ² qPCR Master Mix	1275μl	550μl	2000μl
Diluted First Strand cDNA Synthesis Reaction	102μl	102μl	102μl
ddH ₂ O	1173μl	448μl	1898μl
Total Volume	2550μl	1100μl	4000μl

NOTE: この調製液は余分が140μlだけです。各ウェルに正確に分注してください。

NOTE: RT² RNA QC PCRアレイを用いたRNAのQC確認をされていない場合、トラブルシューティングが必要になるかもしれませんので、cDNA合成反応液を-20℃に9uL残しておいてください。

2. プレートタイプA, C, D, Fの96wellプレートの場合:

- シールバックから注意して取り出す
- 実験反応液25uLをPCR Arrayの各ウェルに加える。できれば、8チャンネルピペットもしくは12チャンネルピペット(8チップだけ使用)を使う。

NOTE: コンタミをさけるため、チップは液を加えるごとに変えてください。

c. 次のステップとはばして、“Performing Real-Time PCR Detection”へ

3. プレートタイプE, Gの384wellプレートの場合:

NOTE: 各384wellプレートは4サンプル分で96wellのセットが1wellづつ分割して配置されています。マルチチャンネルピペッターの間隔をアレイレイアウトにあうように調節してください。図2. を参考に正しいウェルにサンプルを分注してください。

- シールバックから注意して取り出す
- 実験反応液10μlをPCR Arrayの各ウェルに加える。できれば、8チャンネルピペットもしくは12チャンネルピペット(8チップだけ使用)を使う。

NOTE: コンタミをさけるため、チップは液を加えるごとに変えてください。

Sample #1

Sample #2

Sample #3

Sample #4

図2. 384wellプレートにサンプルを分注するときは、反応液10μlをサンプル番号と図に記載の番号にあうウェルに加えてください

c. 次のステップとはばして、“Performing Real-Time PCR Detection”へ

4. 384HT PCR Arrayの場合

- シールバックから注意して取り出す
- 実験反応液10μlをPCR Arrayの各ウェルに加える。できれば、8チャンネルピペットもしくは12チャンネルピペ

ット(8チップだけ使用)を使う。

NOTE: コンタミをさけるため、チップは液を加えるごとに交換してください。

5. Performing Real-Time PCR Detection:

NOTE: ご使用のリアルタイムPCR装置のマニュアルに従って操作してください。

- a. 8ウェルキャップストリップを注意してプレートに取り付ける(フォーマットAおよびD)、または、接着フィルムを注意してプレートに取り付ける(フォーマットC、E、FおよびG)

NOTE: PCRアレイのウェルに泡がないことを確かめてください。泡を除くためにプレートを静かにタッピングするか、短く遠心してください。

- b. PCRサイクルプログラムを設定し終わるまで氷上で静置

- c. リアルタイムサーマルサイクラー上にプレートを置く。もしサーマルサイクラーの推奨があれば、フィルムと一緒にcompression padを使用

NOTE: 実験反応液入りのPCRアレイは-20°Cで保存可能です。ランするまで1週間程度アルミホイルに包んでおいてください。

- d. お使いのリアルタイム装置にあうプログラム(下記)を設定して実行する。装置に付属のソフトウェアの指示があれば"Absolute Quantitation"を選択する。

NOTE: 各装置のセットアッププロトコールも個別に用意があります。ご参照ください。www.sabiosciences.com/pcrarrayprotocolfiles.php

Program #1、以下の装置は全て、2ステップサイクリングプログラム:

ABI社装置全て(7000, 7300, 7500, 7700 and 7900HT)

BioRad iCycler®, MyiQ cyclers, iQ5 real-time PCR detection systems

Stratagene社装置全て(Mx3000p, Mx3005p, and Mx4000p)

Eppendorf Mastercycler® ep *realplex*, Roche LightCycler® 480

Cycles	Duration	Temperature
1	10 minutes ¹	95°C
40	15 seconds	95°C
	1 minute ²	60°C

Program #2、その他の全ての装置は3ステップサイクリングプログラム:

例) BioRad (MJ Research) Opticon, Opticon 2, Chromo 4

Cycles	Duration	Temperature
1	10 minutes ¹	95°C
40	15 seconds	95°C
	30 to 40 seconds ^{2,3}	55°C
	30 seconds	72°C

1. HotStart DNAポリメラーゼを活性化するため、10分間、95°Cの反応が必要

2. 各サイクルのアニーリングステップの間、SYBR® Green蛍光を検出、レコードする

3. Different instruments装置が異なれば、蛍光シグナルを検出する時間の長さは異なるので、お使いの装置に適したアニーリングステップ(55°C)を選択する

- e. 装置のソフトウェアを使用して、各ウェルのthreshold cycle (Ct) を計算する

- i. "Baseline" と "Threshold Values" をマニュアルで設定する

ii. "Baseline" を決定するには、amplification plotsのLinear Viewを使い、サイクル数2から増幅があらわれるサイクル数まで(通常10くらい、ただし15未満)を読むように設定する

iii. "Threshold Values" を決定するには、amplification plotsのLog Viewを使い、バックグラウンドシグナルより上、かつamplification plotのリニア位相の下3分の1以内のところに設定する

iv. 重要: BaselineとThreshold Valueは同じ解析をするとき全てのアレイを通じて同じにしてください。もしRNAの品質が十分にコントロールされ、サイクリングプログラムが正しく行われ、BaselineとThreshold Valueが正しく定められていれば、Ct値は20±2になります。

- v. 得られたCt値をData Analysis Template Excel fileにエクスポートする

6. クオリティーコントロール:

融解曲線分析:

前述のサイクリングプログラム後すぐに、PCR装置のソフトウェアを使って融解曲線プログラムを実行し、プレート上の各ウェルの一次導関数融解曲線を作成してください。各反応において、80°C以上にピークが1つだけあらわれます。もしお使いの装置に初期設定の融解曲線プログラムがなければ、下記のプログラムを実行してください。

95°C, 1 min; 65°C, 2 min (OPTICS OFF); 65°C to 95°C at 2°C/min (OPTICS ON).

すぐに融解曲線を作成しない場合には、そのままアルミホイルに包んで -20°C に保存してください。プレートを室温に戻して、装置にセットし融解プログラムを実行してください。

NOTE: PCRのあと蒸発が見られないかプレートを確認してください。もし蒸発あとが見られたら、どのウェルかを書きとめておいてください。

NOTE: PCRのラン前や保存時にPCRアレイのキャップ(またはフィルム)をあげないでください。DNAコンタミネーションの原因になります。

D. データ解析: $\Delta\Delta C_t$ 法

NOTE: PCRアレイデータ解析ウェブポータル

下記アドレスのPCRアレイデータ解析ウェブポータルをご利用ください:

<http://www.sabioscience.com/pcrarraydataanalysis.php>

PCRアレイデータ解析ウェブポータルはリアルタイムPCR装置から得られる C_t 値から $\Delta\Delta C_t$ の自動計算を行い、コントロール評価まで行います。表フォーマット、スキャッタープロットデータ、3-Dプロファイル、ボルケーノプロットの結果が得られます。

RT² profiler™ PCRアレイ&アッセイ FAQ集

引用 ・ SABioscience社ホームページ

SABiosciences Corporation
メーカー略号：SPA

商品 ・ RT² profiler™ Array
※商品案内26ページ参照

サンプル調製について

Q：信頼できるqRT-PCR結果を得るために、RNA精製ステップは重要ですか？

A：遺伝子発現解析実験において最も重要な必要条件は、実験ごとに一貫性のある、高品質なRNAを調製することです。DNA、タンパク質、糖や有機溶媒によるコンタミが実験の成功を危ういものにします。RNAサンプルのゲノムDNAコンタミは遺伝子発現解析結果の品質を落とします。DNAコンタミはRNA濃度のOD値をつり上げ、RT-PCR実験の間違ったポジティブシグナルの原因にもなります。RNaseコンタミはRNAサンプルを分解し、シグナルの値を低くして、PCRの間違ったネガティブシグナルの原因になります。RNAサンプル中に残った糖、コラーゲン、高分子または有機溶媒は、DNaseの活性を阻害します。これはゲノムDNA除去のためのDNase処理に影響します。これらのコンタミは逆転写酵素とDNAポリメラーゼも阻害し、逆転写効率を低くしてPCR感度を下げます。

Q：細胞や組織サンプルから高品質のRNAを精製するための手技上のポイントは何ですか？

A：RNA抽出法においてRNaseがNo.1の脅威です。さらに、組織サンプルからRNAを抽出するときは、阻害作用のある混入物を一緒に精製してしまうことが主な問題になります。脅威を最小限に抑えるため、いつでも手袋をしてください。RNase-free試薬とRNase-free器具を必ず使用してください。さらに、通常組織／細胞溶解ステップはグアニジンイソチオシアネート(タンパク質変性剤)入りの溶解バッファーを用いて行ってください。RNA抽出時に十分量の溶解バッファーを使用することがとても重要になります。組織／細胞ペレットに対して少なくとも10倍の溶解バッファー(10X μ l 溶解バッファー/mg 組織または細胞ペレット)を推奨しています。培養細胞から抽出するよりも組織サンプルから高品質のRNAを抽出することの方が難しく、RNaseを高レベルに含む組織やホモジナイズしにくい組織は特に難しいです。例えば、肝臓、心臓、皮膚などです。多くの組織サンプルは、除くのが難しい混入物(糖、コラーゲン、脂肪、脂質、繊維)を含み、RNA調製物から除かれないと、次に続く酵素反応に影響します。組織サンプルのホモジナイズに溶解バッファーを多量に使用するとRNase分解からRNAを守ることができます。TRI reagentを使用したRNA抽出とスピニングを用いたRNA精製の組み合わせを使ってください。この組み合わせが通常阻害性の混入物なしのRNA調製物をもたらします。

Q：遺伝子発現解析実験に用いるための高品質のRNAを細胞や組織サンプルから調製するための最も信頼できる方法は何ですか？

A：SAIバイオサイエンス社はRT² qPCR-Grade RNA Isolation Kit(品番PA-001)をおすすめしています。培養細胞や調製してすぐの白血球細胞は、直接このキットを使用できます。動物組織から高品質のRNAを抽出するには、このキットを使用する前にTRI reagentを使用して組織をホモジナイズしてフェノールクロロホルム抽出をしてください。

Q：cDNA合成のテンプレートとして使うRNAサンプルを保存する溶液のおすすめは何ですか？

A：最も良い結果を出すには、全てのRNAサンプルはRNase-free水に溶解してください。あるいは、RNase-free 1mM Sodium Citrate (pH6.5) または 10mM Tris buffer (pH7.0) も使用可能です。DEPC処理水は使用しないでください。多くのDEPC調製物は逆転写反応やPCRを阻害する分子をコンタミしています。長期間保存する場合には、RNase-free水に-70℃で保存か、上記バッファーに-70℃保存か、エタノールまたはイソプロパノール沈殿してください。凍結融解を繰り返さないように、RNAサンプルは1反応ごとに小分けにすることをおすすめします。

Q：RNAサンプルの品質を評価するために何をすればいいですか？

A：全てのRNAサンプルは分光光度法(10mM Tris pH8.0に希釈)と電気泳動法で評価し、下記の規格にあうことを確認してください。

- ・ トータルRNA濃度(A260)：4 μ g/ml以上
- ・ A₂₆₀：A₂₈₀比；1.8から2.0
- ・ A₂₆₀：A₂₃₀比；1.7以上

- ・RNA6000 Nano LabChipを使用したAgilent Bioanalyzer (トータルRNA~100ng)または、アガロースゲル電気泳動 (トータルRNA 1.5 μ g、2.0%アガロース、エチジウムブロマイド染色)の結果、28S rRNAと18S rRNAのシャープなバンドが得られているか。スミアなバンドがでていないか。バンド強度の比(28S : 18S)が~2:1になっているか。
 - ・RNA6000 Nano LabChipを使用したとき、RNAがRIN (RNA integrity) スコア7.0以上。
- 上記のQCテストに加えて、SAバイオサイエンス社ではRNAサンプルのクオリティチェック用プレートを販売しています (ヒト用 ; 品番PAHS-999X、マウス用 ; PAMM-999X、ラット用 ; PARN-999X)。これらのアレイは、高レベルと低レベルのハウスキープ遺伝子、逆転写反応効率、PCR反応効率、ゲノムDNAや一般的なDNAコンタミを評価できます。

Q : RNA調製物にRNaseコンタミの疑いがあるときはどうすればいいですか？

- A : SAバイオサイエンス社のRT² qPCR-Grade RNA Isolation Kit (品番PA-001)のようなスピナラムベースの方法で再精製してください。

Q : トータルRNAからゲノムDNAコンタミを避ける、または除くためにはどうすればいいですか？

- A : 全ての実験はDNA-freeな環境で行ってください。必ず、推奨のRNA抽出法にDNase処理ステップを入れてください。または、スピナラムベースの方法で再精製したあと、RNase-free DNaseでRNAを別に処理してください。必ず、RNase-free DNaseの製造元が推奨している使用量とincubate時間を2倍にしてください。組織サンプルからRNAを抽出するときは、DNase処理とRNA抽出の前にTRI reagent (MOR社 品番 : TR118) 抽出をしてください。RNA調製時のDNAコンタミを最小限にするために、SAバイオサイエンス社RT² First Strand Kit (品番 : C-03)をおすすめします。本キットには逆転写前のゲノムDNAの除去ステップが含まれます。

逆転写反応について

Q : mRNA由来のcDNAから増幅がえられたのか、またはゲノムDNAコンタミから増幅が得られたのか、どうやって判断すればいいですか？

- A : 最も厳密な方法は逆転写酵素なしのコントロール (NRT) です。mRNA由来のcDNAテンプレートがなければ、検出されるPCR産物はゲノムDNAコンタミ由来のもののみになります。

qPCRについて

Q : qPCRマスターミックスに含まれるROXやFluorescein色素は何のために含まれますか？

- A : ROXとFluorescein色素は各リアルタイムPCR装置に対応して用いられ、蛍光のばらつきを標準化し、ウェルごとの容量の変化量を補正し、わずかな量の違いや濃度の変化を調整し、検出の精密さを最適化するのが目的です。

Q : qPCRやqRT-PCRに用いられるネガティブコントロールは一般的に何ですか？

- A : qPCRとqRT-PCR実験には以下の3つのネガティブコントロールがあります。
1. テンプレートなしのコントロール (NTC ; No Template Control) は、DNAテンプレートとRNAテンプレートがなく、外部からの核酸のコンタミ用のコントロールになります。SYBR Green使用時にプライマーダイマー形成のコントロールとしても使えます。
 2. 逆転写酵素なしのコントロール (NRT ; No Reverse Transcriptase Controlまたは、MRT ; Minus Reverse Transcriptase Control) は、逆転写酵素なしでqRT-PCR実験での逆転写反応を行います。RNA調製物中のDNAコンタミの量を評価します。
 3. 増幅物なしのコントロール (NAC ; No Amplification Control) は、PCR反応からDNAポリメラーゼを除きます。これは蛍光のバックグラウンド用のコントロールになります。

Q : qPCRやqRT-PCRに用いられるポジティブコントロールは一般的に何ですか？

- A : qPCR実験で、間違ったネガティブシグナルがあるかを確認するために、ポジティブコントロールは不可欠です。下記の2種類のものがあります。
1. 外因性 ; 目的物質をコードするDNAやRNAを外から加えるポジティブコントロール。実験サンプルとは別のウェルやチューブでこれらのポジコンの実験を行えば、逆転写・PCR反応条件が最適なものであったかどうかのコントロールになります。さらに、実験サンプルに添加し、平行して実験すると、逆転写・PCR反応を阻害するかがサンプルに含まれるかどうかの評価になります。
 2. 内在性 ; 実験サンプルに内在する物質で、研究目的とは異なるポジティブコントロール。正規化のために使用され、サンプル間の量や質の差を補正するために使用されます。

Q : qPCR結果の正規化のためのハウスキーピング遺伝子を選ぶガイドラインはありますか？

A : 正しいハウスキーピング遺伝子がはっきりわからない場合、研究分野の文献を参考にして他の研究者が一般的にしようしている遺伝子がどれかを確認してください。個々のハウスキーピング遺伝子の発現に実験条件が与える影響をみるために、複数のハウスキーピング遺伝子を各遺伝子発現実験に使用されることをおすすめします。お客様の実験条件にふさわしいハウスキーピング遺伝子を体系的に評価するために、ハウスキーピング遺伝子PCR Arrayを販売しています(ヒト用；品番PAHS-000X、マウス用；PAMM-000X、ラット用；PARN-000X)。このアレイには12種類のハウスキーピング遺伝子が8セット含まれます。お客様の実験条件下で一定の発現レベルの遺伝子を簡単に同定できます。

Q : qPCRアッセイのサンプル間の変動を正規化するためにどうして18S ribosomal RNA (rRNA)を使うのですか？

A : 18S ribosomal RNAは組織でも細胞でも変わらず発現しているので、定量的なreal-time RT-PCR Assayのコントロールとして適しています。しかしながら多くの細胞で高発現しているので、時々同一反応での別の遺伝子発現実験アッセイの内在性の正規化物質としての使用が難しいときがあります。

Q : 解離曲線って何？ どうしてSYBR Greenを使ったqPCRの後には解離曲線を得るのが重要なのですか？

A : 解離曲線はPCR実験の終わりに次の3ステップに従って行います。95°Cで変性し、プライマーのT_m値に基づいた温度でアニーリングさせ、徐々に95°Cまで温度を上げてください。蛍光強度が最後の温度上昇のところでモニターされ、解離曲線が得られます。曲線を解析すると、PCR産物の均一性(プライマーダイマーがあるかどうかなど)を簡単に評価できます。その結果PCR反応の特異性を確認できます。SYBR Greenプローブ試薬には配列特異性がないので、PCR解析後のこのような実験は重要になります。

データ解析について

Q : qRT-PCRアッセイで得られるqPCR Ct (Threshold Cycle) 値が低すぎる (<12) ときの理由はなんですか？

A : テンプレートが多すぎるかもしれません。逆転写に用いるトータルRNAを少なくしてください。または、テンプレートを希釈して(低い濃度で)使用してください。1μl以下の量をピペットで取らないでください。

Q : qRT-PCRアッセイで得られるqPCR Ct値が高すぎる (>35) ときの理由はなんですか？

A : PCR産物が得られないのにはいくつか理由が考えられます。

1. 相当する遺伝子がqRT-PCR法の検出限界以上発現しない。
2. 実験上のエラーがある。この場合、ポジティブコントロールとして目的遺伝子を含むことが分かっているテンプレートを使用してPCR試薬と実験手順をトラブルシューティングしてください。
3. RNAの品質が低い。この場合、上記に記載したRNAサンプル調製時の注意事項をご確認ください。
4. テンプレートが十分ない。この場合、トータルRNAの量を増やすか、テンプレート希釈率を低くして(高濃度で)使用するか、テンプレートの体積を増やしてください。
5. 細胞に導入したベクターが細胞内で発現する遺伝子を検出しようとする場合、他の可能性が考えられます。目的遺伝子のORFだけを発現するベクターで、5'または3'のUTR (untranslated region) 内のターゲットを増幅するプライマーを使用すると、転写物は検出されないでしょう。

Q : qPCRアッセイでコンタミしたDNA由来のqPCRシグナルの割合はどのように予測できますか？

A : 増幅効率が100%と仮定すれば、Ct値の各ステップの増加はqPCRテンプレート量の倍になります。従って、qPCRアッセイのCt値の違いを評価すると以下の予測が立てられます。

DNAコンタミによる遺伝子発現率	DNAコンタミによる遺伝子発現割合
(1/2 ¹) = 1/2	50%
(1/2 ²) = 1/4	25%
(1/2 ³) = 1/8	13%
(1/2 ⁴) = 1/16	6%
(1/2 ⁵) = 1/32	3%

Q : 70°C以下の温度でqPCR解離曲線に複数のhigh-intensityピークが見られました。どうしてですか？

A : もしその余分なピークが不規則でノイズのようで、サンプルではおこらず、70°Cより低い温度で起こるなら、それらピークはPCR産物を示すものではなく、装置のセッティングに起因するアーチファクトと考えられます。通常、副産

物による余分なピークはなだらかで、規則的で、サンプルの多くにも見られ、70℃より高い温度でも見られます。これらのケースを区別したい時は、アガロース電気泳動してください。もし1本だけバンドが現れたら、解離曲線の余分なピークは装置のアーチファクトで、PCR産物ではありません。

Q：qPCRアッセイの後の解離曲線に複数のピークが見られました。どうしてですか？

A：リアルタイム解離曲線に複数のバンドが見られる原因はいくつか考えられます。いつもPCR産物をアガロース電気泳動で検討するようにしてください。大きいバンドはゲノムDNAのコンタミによるもので、逆転写をしないコントロールをとることで検証できます。小さいバンドはプライマーダイマーによるものと考えられます。この場合、必ずSAバイオサイエンス社のRT² Real-Time SYBR Green PCRマスターミックスとRT² PCRプライマーと一緒に使ってください。余分なバンドもまた、トータルRNAサンプルのアノテーションされていない選択的な転写物かもしくはスプライスバリエーションによるものと考えられます。

Q：絶対定量と相対定量の違いは何ですか？

A：絶対定量はコピー数の絶対量で発現レベルを決定します。相対定量は2つのサンプル間の発現の変化を決定します。両方とも標準曲線と校正曲線を利用してデータを解析します。絶対定量の場合、正確な既知のテンプレート量を利用して曲線を描きます。相対定量の場合、テンプレートは測定したいものが発現していることがわかっているだけで、必ずしもその量は必要ではありません。未知のものをどちらかの標準曲線と比較して、容量を推定します。絶対定量のための標準曲線から最終的な値を導きます。測定したいものの相対定量の校正曲線結果は同じサンプル中のハウスキーピング遺伝子の結果により標準化します。そして、標準化した値をサンプル間で比較します。RT² Real-Time RT-PCR Assayは相対定量による遺伝子発現プロファイリング用にデザインされています。

Q：qPCRアッセイデータ解析の相対法(ΔΔCt法)とは何ですか？どうやって解析するのですか？

A：リアルタイムPCRデータ解析の比較法とΔΔCt法によって2つの異なるRNAサンプルから得られたCt値はハウスキーピング遺伝子で直接標準化され、比較されます。この方法は測定したい遺伝子とハウスキーピング遺伝子の増幅効率が100% (標準曲線、検量曲線の傾きが3.33)であることを想定しています。まず、測定したい遺伝子とハウスキーピング遺伝子のCt値(ΔCt)間の違いが各実験サンプルごとに計算されます。そして、実験サンプルとコントロールサンプル間のΔCtの違いが計算されますΔΔCt。2つの測定したいサンプルの発現の変化は2(ΔΔCt)になります。

Q：qPCRアッセイの増幅効率はどうやって決めますか？

A：多量に発現することが知られているcDNAテンプレートの10倍段階希釈列を5つ準備してください。個々のreal-time反応に個々の段階希釈列を使い、Ct値を決めてください。片対数(semi-log)グラフにCt値と希釈係数をプロットして、データを直線にあわせてください。直線の傾きが-3.33に近づけば近づくほど、増幅効率は100%に近づきます。Real-time PCRの精度は増幅効率によって決まります。増幅効率が少なくとも80%あれば十分です。

Q：qRT-PCRアッセイで増幅効率が低く悪い場合、理由は何が考えられますか？

A：標準曲線用に選んだテンプレートが、検出可能な十分量の測定したい遺伝子を発現していないのかもしれませんが。このような場合は、標準曲線反応の多くが高いCt値(>30)をもたらしているはずで、標準曲線用のテンプレートの由来を変えて試してください。例えば、一般的なRNA由来のcDNAや、測定したい遺伝子の全長 *in vitro* 転写産物由来のcDNAや、測定したい遺伝子の全長cDNAクローンなどです。

SPA社qPCRおよびqRT-PCR商品について

Q：どうしてRT² qPCR PrimerアッセイはSAバイオサイエンス社のRT² qPCR SYBR Greenマスターミックスと一緒に使用されるべきなのですか？

A：SAバイオサイエンス社が保証できるのは、SAバイオサイエンス社のRT²-PCRプライマーセットとSAバイオサイエンス社のマスターミックスをご使用いただいたときだけです。SAバイオサイエンス社のマスターミックス構成成分とプライマーデザインアルゴリズムは予測されるサイズにシングルバンドが生じることを保証するために最適化されています。社内で他社のマスターミックスを用いて実験をすると、プライマーダイマーや非特異的PCR産物が見られることがあります。

Q：RT² qPCRアッセイやRT² qRT-PCRアッセイに使用可能な動物種は？

A：RT² qPCRアッセイとRT² qRT-PCRアッセイはヒト、マウス、ラット用のものがあります。お客様の実験動物種の受託作製も承ります。お問い合わせください。

Q：購入したRT² qPCRプライマーアッセイの配列を教えてくださいませんか？

A：配列は公開していません。商品の添付資料にRT² PCR Primerに対する遺伝子特異的な複製配列のreference position(RefSeq numberに相当)を記載しています。ジャーナルにのせるときに品番とreference positionをお

使ってください。また、reference positionやRefSeq numberやNCBIデータベースを使って複製産物が本当に遺伝子特異的かを保証し、プライマーが最適な部分を増幅しているかを確認するためにもお使いいただけます。

Q： どうしてRT² qPCRプライマーはエクソンとイントロンの境界や分岐をまたぐデザインにしていないのですか？

A： SYBR® Greenを用いたリアルタイムPCR検出の場合、プライマーをデザインする上で最も重要なパラメーターはプライマーダイマーになることなく、高い増幅効率で単一遺伝子特異的増幅産物を得ることです。一つのエクソンの中に含まれる短い鋳型を増幅するプライマーセットが最もこの条件を満たします。エクソンとイントロンをまたぐプライマーはSYBR® Greenを用いたリアルタイムPCRの検出を困難にするスプライスバリエーションとアノテーションされていない選択的な転写産物を検出し、また、ゲノムDNAのコンタミや異核RNA (hnRNA) も検出してしまいます。

Q： RT² qPCRプライマーアッセイのQCは？

A： 各RT² qPCRプライマーはSAバイオサイエンス社でリアルタイムPCRと従来のPCRで確認しています。これらのアッセイはゲノムDNAの単一源を使用しています。QCをパスするには、各プライマーがアガロースゲル電気泳動で予測される正しいサイズにシングルバンドが得られなければなりません。また、リアルタイム解離曲線でシングルピークが得て、プライマーダイマーがないことを確認しなければなりません。各プライマーセットの増幅効率 (DART法) と感度もまた確認しています。

Q： 自家製のPCRマスターミックスや他社製のマスターミックスとRT² qPCR商品と一緒に使用するとどうなりますか？

A： SAバイオサイエンス社が保証できるのは、SAバイオサイエンス社のRT²-PCRプライマーセットとSAバイオサイエンス社のマスターミックスをご使用いただいたときだけです。SAバイオサイエンス社のマスターミックス構成成分とプライマーデザインアルゴリズムは予測されるサイズにシングルバンドが生じることを保証するために最適化されています。社内で他社のマスターミックスを用いて実験をすると、プライマーダイマーや非特異的PCR産物が見られることがあります。

Q： RT² qPCRやRT² qRT-PCRアッセイのテンプレートの推奨量を教えてください。

A： first strand cDNA合成 (逆転写) 反応用のトータルRNA量は100ngから5μgが実用的な範囲です。初めての実験にはトータルRNA量、0.5μgから1μgの使用と、未希釈テンプレートが10倍に希釈したテンプレート何れか1μlを各25μl RT² qPCR反応につき使用してください。

CBL社低分子GTPase活性化アッセイキット

引用

・データシート(品番STA-400、STA-401、STA-402、STA-403、STA-404、STA-405)

Cell Biolabs Inc.
メーカー略号：CBL

商品

・ Ras Activation Assay kit (品番STA-400)
 ・ Rac Activation Assay kit (品番STA-401)
 ・ Cdc42 Activation Assay kit (品番STA-402)
 ・ Rho Activation Assay kit (品番STA-403)
 ・ Rac/Cdc42 Activation Assay Combo kit (品番STA-404)
 ・ Rho/Rac/Cdc42 Activation Assay Combo kit (品番STA-405)
 ※商品案内60ページ参照

必要なもの

下記の試薬・器具はキットには含まれていません。キットの構成内容商品は商品案内ページを参照ください。

- ・ 刺激細胞もしくは刺激していない細胞
- ・ 各アクチベーター*
- ・ プロテアーゼインヒビター
- ・ 0.5M EDTA
- ・ 1M MgCl₂
- ・ 30℃インキュベーターもしくはウォーターバス
- ・ 4℃チューブロッカーもしくはシェーカー
- ・ 2X還元SDS-PAGEサンプルバッファー
- ・ 電気泳動装置、免疫ブロットングシステム
- ・ TBST (10mM Tris-HCl, pH7.4, 0.15M NaCl, 0.05% Tween-20) といった免疫ブロットングウォッシュバッファー
- ・ 免疫ブロットングブロッキングバッファー (5% 脱脂ドライミルク入りTBST)
- ・ PVDFもしくはニトロセルロース膜
- ・ 二次抗体
- ・ ECL検出試薬

1 試薬の調製

- ・ 1Xアッセイ/溶解バッファー：5Xストックを軽く混ぜ、脱イオン水で1Xに希釈します。使用前にプロテアーゼインヒビター (1mM PMSF, 10μg/ml leupeptin, 10μg/ml aprotininなど) を加えます。

2 サンプルの調製

注意：GTP結合型低分子GTPaseはGDP結合型低分子GTPaseによりすぐに加水分解されるのでフレッシュな細胞溶解物を使用してください。-70℃で保存された凍結溶解物は使用できます。4℃あるいは氷上で使用すれば加水分解を減少することができます。溶解物の凍結融解は避けてください。

2-1 接着細胞

1. 80~90%コンフルエントな状態まで細胞を培養し、必要に応じて細胞を各アクチベーター*で刺激処理します。
2. 培養培地を吸引除去し、氷冷したPBSで2度洗浄します。
3. PBSを完全に除去し、氷冷した1Xアッセイ/溶解バッファーを加えます (100mm組織培養プレートあたり 0.5~1ml)。
4. 氷上に培養プレートを 10~20分ほど置きます。
5. 細胞スクレーパーでプレートから細胞を剥がします。
6. 適当なサイズのチューブに溶解物を移し、氷上に置きます。
7. 核溶解が起きている場合、細胞溶解物はかなり粘性が高くなりピペット操作が困難になります。もしこのようなことが起きたら、溶解物を27½ゲージシリンジ針に3~4回通し、ゲノムDNAをせん断します。
8. 溶解物を10分間遠心分離 (4℃、14,000Xg) します。
9. 上清を集める。すぐに使用する場合は氷上に置きます。後で使用する場合は、すぐに凍結させ、-70℃で保管します。
10. ポジティブ・ネガティブコントロール用GTPγS/GDPローディングのステップに進むか、Pull-Downアッセイに進みます。

2-2 浮遊細胞

1. 細胞を培養し、必要に応じて各アクチベーター*で刺激処理します。
2. 細胞数を数え、遠心分離で細胞をペレット状態にします。
3. 培養培地を吸引除去し、氷冷したPBSで2度洗浄します。
4. PBSを完全に除去し、氷冷した1Xアッセイ/溶解バッファーを加えます (1×10^7 細胞数あたり 0.5~1 ml)。
5. 何回かピペティングし細胞を溶解します。
6. 適当なサイズのチューブに溶解物を移し、氷上に置きます。
7. 核溶解が起きている場合、細胞溶解物はかなり粘性が高くなりピペット操作が困難になります。もしこのようなことが起きたら、溶解物を27½ゲージジシリンジ針に3~4回通し、ゲノムDNAをせん断します。
8. 溶解物を10分間遠心分離 (4℃、14,000Xg) します。
9. 上清を集めます。すぐに使用する場合は氷上に置きます。後で使用する場合は、すぐに凍結させ、-70℃で保管します。
10. ポジティブ・ネガティブコントロール用GTPγS/GDPローディングのステップに進むか、Pull-Downアッセイに進みます。

3 アッセイプロトコール

3-1 GTPγS/GDPローディング(ポジティブ・ネガティブコントロール)

注意: コントロールに使用しないサンプルは氷上に置いておきます。

1. 遠心チューブ2つに0.5~1 mlずつ細胞溶解液を入れます。

注意: サンプルあたり標準タンパク質含量は >0.5mgです。

2. 各サンプルの液量を1Xアッセイ溶解バッファーで1 mlにします。
3. 各サンプルに0.5M EDTAを20μl加えます。
4. 1つのチューブ(ポジティブコントロール)には100X GTPγSを10μl加え、残りのチューブ(ネガティブコントロール)には100X GDPを10μl加えて混ぜ、見分けができるようにラベルを貼ります。
5. チューブを攪拌しながら30分間インキュベーションします(30℃)。
6. 各チューブに1M MgCl₂を65μl加えローディングをストップさせます。混合後氷上に置きます。
7. Pull-Downアッセイに進みます。

3-2 Pull-Down アッセイ

1. 遠心チューブに細胞溶解液(必要に応じて各アクチベーター*で刺激処理をする)を0.5~1 ml加えます。
2. 各サンプルの液量を1Xアッセイ溶解バッファーで1 mlにします。
3. スラリー状の各PBDアガロースビーズ*をボルテックスで十分に攪拌します。
4. 各チューブ(GTPγS/GDPコントロールを含む)に攪拌したスラリー状のビーズを40μl加えます。
5. チューブをやさしく攪拌しながら1時間インキュベーションします(4℃)。
6. 遠心分離(10秒間、14,000Xg)をしてビーズをペレット状にします。
7. 上清を吸引除去し、ビーズペレットが除去されていないことを確認します。
8. ビーズペレットに1Xアッセイバッファーを0.5 ml加えて洗浄し、遠心分離/吸引除去をします。洗浄操作は3回行います。
9. 注意して上清を吸引除去します。
10. ビーズペレットに2X 還元SDS-PAGE サンプルバッファーを40μl加え、攪拌します。
11. 各サンプルを5分間ボイルします。
12. 各サンプルを遠心分離(10秒間、14,000Xg)します。

4 電気泳動及び転写

1. ポリアクリルアミドゲルにプルダウンした上清を1ウェルあたり20μlロードします。また、染色済みMWスタンダード(ステップ3で転写が成功したかの指標になる)もロードすることを推奨します。

注意： 必要なら、免疫ブロットコントロールとしてGTPase免疫ブロットコントロール (ready-to-use、ポイル済みで提供) を1ウェルあたり10 μ l加えます。

2. メーカーの指示書に従ってSDS-PAGEを行います。
3. メーカーの指示書に従ってPVDFあるいはニトロセルロース膜にゲル-タンパク質を転写します。

5 免疫ブロットティング及び検出(全ステップを室温で行います)

1. 下記の通り電気ブロットティングステップを行います。PVDF膜を100% Methanolに15秒間浸し、それから5分間室温で乾かします。

注意： PVDFの代わりにニトロセルロースをお使いの場合は、このステップははずしてください。

2. 5%脱脂ドライミルク入りTBSTに膜を浸し、攪拌しながら室温で1時間置く。5%脱脂ドライミルク入りTBSTで1:200~1:1000に希釈した新鮮な一次抗体*を加え攪拌しながら室温で1~2時間インキュベーションします。

注意： 抗体を節約のためにプラスチックバックでインキュベーションすることをお奨めします。

3. プロットした膜をTBSTで5分間洗浄します。この操作を3回繰り返します。
4. 5%脱脂ドライミルク入りTBSTで希釈した新鮮な二次抗体を加え攪拌しながら室温で1時間インキュベーションします。
5. プロットした膜をTBSTで5分間洗浄します。この操作を3回繰り返します。
6. 好みの検出方法を使用します。

※各商品により異なります。

6 結果例

図1. Cdc42活性アッセイキット
 レーン1：GTPase WBポジティブコントロール
 レーン2：293細胞溶解物をGDPと一緒に流し、PAK1 RBDアガロースビーズとインキュベーション
 レーン3：293細胞溶解物をGTP γ Sと一緒に流し、PAK1 RBDアガロースビーズとインキュベーション

図2. Rac活性アッセイキット
 レーン1：GTPase WBポジティブコントロール
 レーン2：293細胞溶解物をGDPと一緒に流し、PAK1 RBDアガロースビーズとインキュベーション
 レーン3：293細胞溶解物をGTP γ Sと一緒に流し、PAK1 RBDアガロースビーズとインキュベーション

図3. Rho活性アッセイキット
 レーン1：GTPase WBポジティブコントロール
 レーン2：MDA-231細胞溶解物をGDPと一緒に流し、Rhotekin RBDアガロースビーズとインキュベーション
 レーン3：MDA-231細胞溶解物をGTP γ Sと一緒に流し、Rhotekin RBDアガロースビーズとインキュベーション

参考文献

1. Harmon, B. *et al.* (2008). Induction of the G-alpha-q signaling cascade by the human immunodeficiency virus envelope is required for virus entry. *J. Virol.* **82** :9191-9205 (#STA-400).
2. Zhan, L. *et al.* (2008). Deregulation of scribble promotes mammary tumorigenesis and reveals a role for cell polarity in carcinoma. *Cell* **135**(5):865-878 (#STA-401).
3. Somerville, T. *et al.* (2006). Identification and characterization of leukemia stem cells in murine MLL-AF9 acute myeloid leukemia. *Cancer Cell* **10** :257-268 (#STA-401, STA-402).
4. Zhang, S. *et al.* (2008). The tumor suppressor LKB1 regulates lung cancer cell polarity by mediating Cdc42 recruitment and activity. *Cancer Res.* **68** :740-748 (#STA-402).
5. Lurger, M. *et al.* (2006). Regulation of epithelial wound closure and intercellular adhesion by interaction of AFB₁ with actin cytoskeleton. *J. of Cell Science* **119** :3385-3398 (#STA-404).
6. Mohseni, M. *et al.* (2008). The headpiece domain of dematin regulates cell shape, motility, and wound healing by modulating RhoA activity. *Mol. Cell. Biol.* **28** :4712-4718 (#STA-405).

細胞シグナリング

レンチウイルスベースのシグナルパスウェイレポーター

Signal™ レンチレポーター

ready-to-transduceのレンチウイルス粒子で、どんな哺乳類細胞においても細胞シグナリング活性を評価できます。レンチウイルスのパワフルなデリバリー効果と転写因子レポーターテクノロジーとを融合させたユニークなシステムです。

- トランスフェクトが難しい細胞でもシグナリング活性を測定可能!!
- Ready-to-Transduce
- レポーターはGFP&ルシフェラーゼの2種類

商品の詳細情報は、コスモ・バイオホームページ上右横のSAバイオサイエンス社のバナーをクリックすると、商品内容がご覧いただけ、カタログの請求もできます。

NF κ B
TGF β
Notch
Hypoxia
MAPK / JNK
MAPK / ERK
Interferon Gamma
Type I Interferon
PKC / Ca⁺⁺
p53 / DNA Damage
Cell Cycle
cAMP / PKA
C / EBP
c-myc
RA Receptor
Wnt

SA Biosciences
Focus on Your Pathway™

ただいま日本語カタログ配布中!!

SA バイオサイエンス社製品はコスモ・バイオがお届けします

Phusion™ Blood Direct PCR Kit

血液サンプルをダイレクトに PCR!

フィンザイム社の Phusion™ 血液 Direct PCR キットは全血から DNA の直接増幅を目的とした実験系に理想的なツールです。

PCR 前の DNA 抽出やサンプル調製といった操作が必要ありません。

本キットは改良した Phusion™ Hot Start High-Fidelity DNA ポリメラーゼを利用しています。

この PCR 酵素は血液中に存在するインヒビターに対して耐性が高く、40% 血液濃度でも酵素活性があります。

Phusion™ 血液 Direct PCR キットは広範囲の血液サンプルにお使いいただけます。

- 特長**
- DNA 抽出・サンプル調製は不要
 - 高濃度の血液サンプルで反応可能 (40% まで評価済み)
 - 様々な抗凝固剤 (EDTA、クエン酸塩、ヘパリン) 処理血液やカードで保存した血液で反応可能
 - 改良した Phusion™ Hot Start DNA ポリメラーゼが短時間で高い特異性、高収率を実現

図 1 : Phusion™ 血液 Direct PCR キットは高濃度血液サンプルでも優れた活性を示す

Phusion™ 血液 Direct PCR キットおよび他社製品を用いて、血液サンプル中のゲノム DNA 断片 (588bp) の増幅を血液濃度別に比較した。PCR 反応にはフィンザイム社の Piko™ サーマルサイクラー (35 サイクル、他社 B 製品は 40 サイクル) および超薄型壁 UTW® 反応チューブを使った。サイクル時間は下段に示した。

+ : ポジティブコントロール (精製 DNA 有り)、- : ネガティブコントロール (精製 DNA 無し)。

コスモバイオニュース

コスモ・バイオでは新商品情報を中心に掲載しているニュースを隔月（奇数月）で発行しております。

毎号、特集として様々な研究の中から旬な話題をピックアップ。
新商品の紹介や、キャンペーン・学会などの情報も掲載しています。

[隔月発行（奇数月） 36 ページ 無料]

会員登録をさせていただくと、定期的にご送付されますので大変便利です。
送付は無料です。是非、ご利用ください。

定期送付をご希望の方は、当社ホームページ (www.cosmobio.co.jp) より会員登録をお願いします。
※登録の際、「ダイレクトメール了承サイン」を「YES」にしてください。

『楽ちん科学カタログ 2008-2009』・『抗体百科 2008-2009』 配布中！

■楽ちん科学カタログ 2008-2009

ご好評いただいております楽ちん科学カタログが新しくなりました！
前回掲載しました商品に更に新商品を多数追加し、
下記7つのカテゴリに分けて、検出や定量に用いるキット商品を
中心に掲載しております。

【掲載カテゴリ】

- シグナル伝達
- 分子生物
- 糖類／レクチン
- 細胞培養／細胞工学
- 抗体アッセイ
- バイオメディカル（環境・食品）
- 受託サービス

■抗体百科 2008-2009

前回掲載しました商品に、新規抗体、ウサギモノクローナル抗体など、
新商品を多数追加し、一次抗体だけで約11万商品、
二次抗体は1万3000件を掲載しています。
さらに、下記付録など+アルファの情報が満載です。

- ・抗体作製受託サービス
- ・ウサギモノクローナル抗体 Q&A
- ・サンタクルーズ社推奨プロトコールなど

【掲載カテゴリ】

- シグナル伝達
- 一次抗体
- 二次抗体
- 付録（ウサギモノクローナル抗体 Q&A 集、
サンタクルーズ社推奨プロトコールなど）

キットをお探しの際は「楽ちん科学カタログ」を、
抗体をお探しの際は「抗体百科」をご覧ください。

PCRアレイの受託もやっています。

ご希望の遺伝子リストに沿った
PCRアレイをお作りします。

- 癌バイオマーカー
- マイクロアレイの追跡調査
- 薬理ゲノミクス
- 薬剤ターゲットの検証

The PCR Array Experts

Focus on Your Genes™

96-well PCRアレイ	
フォーマット	プレート数
12遺伝子、8サンプル/プレート	12, 24
24遺伝子、4サンプル/プレート	24
32遺伝子、3サンプル/プレート	
48遺伝子、2サンプル/プレート	
96遺伝子	>24
全フォーマット	

多くの研究者がSAバイオサイエンス社のPCRアレイの効率と性能を実感しています。バイオマーカーの探索や検証としてスクリーニングに、ご希望に沿ったリアルタイムPCRアレイを構築します。

Build Your Own Path to Success

384-well PCRアレイ	
フォーマット	プレート数
16遺伝子、24サンプル/プレート	6, 12
32遺伝子、12サンプル/プレート	6, 12
48遺伝子、8サンプル/プレート	
96遺伝子、4サンプル/プレート	
384遺伝子まで	24
全フォーマット	>24

- 300種類以上の学術専門誌に引用されている PCRアレイ&アッセイ
- 60,000種類以上の遺伝子に対するプライマーが利用可能
- 厳しい品質管理プロセス
- わずか4週間の納期

ご希望の遺伝子リストを送っていただくだけで、PCRアレイを作成します。

SAバイオサイエンス

検索

詳細はSAバイオサイエンス社ホームページをご覧ください。

www.SABiosciences.com/custompcrplate.php

SA Biosciences
Focus on Your Pathway™

お願い および 注意事項

- 希望販売価格…本誌に記載の価格は、2009年4月1日現在の価格です。価格は予告なしに改定される場合がありますので、御注文の際ご確認ください。なお、表示価格には消費税は含まれておりません。
- 使用範囲…本誌に掲載の商品は、全て「研究用試薬」です。人や動物の医療用・臨床診断用・食品用等としては、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