ストレプトリジン０毒素タンパク質（溶血レンサ球菌毒素）

01-531　　20 µg,　　01-531-5　5 x 20 ug

輸送及び保存：保冷剤又は-20℃で輸送、-20℃（長期；-80℃）で保存。凍結・融解を繰り返さない。

SLO は酸素に不安定であるが、20 mM cysteine や 10 mM DTT 等の SH 還元剤によって再活性化させることができる（文献２）。コレステロールによって不可逆的に溶血活性が失われる。

用途

１）　抗 SLO 抗体（ASO）の力価測定のための抗原（臨床検査薬）WB, Dot blot, ELISA

２）　細胞膜の透過剤（生細胞に低分子から高分子まで導入可能：文献１）

３）　生きた細胞質内の ATP の放出（文献３）

４）　ウエスタン　ブロット

５）　イミュノクロマト

活性測定：3%ヒツジ赤血球を 37℃で３０分処理して 50%溶血させる活性を１HU と定義

純度：　SDS-PAGE（CBB 染色）で 98%以上が SLO(図１)

性状：　1 mg/ml SLO in PBS (-), 1 mM DTT, 50% glycerol, フィルター滅菌済。SLO は容器に吸着してロスが多いので、タンパク質低吸着のシリコン加工したチューブ等を用いることを推奨する。

背景：ストレプトリジン O（SLO）は溶血レンサ球菌が菌体外に産生する膜傷害毒素であり、その膜傷害活性は赤血球の溶血により測定されている。SLO は酸素に不安定で容易に失活するが、チオール化合物により再活性化することからチオール活性化膜傷害毒素（thiol-activated cytolysin）とも呼ばれている。SLO は A 群溶血レンサ球菌だけでなく、C 群や G 群の菌株によっても産生され、これらのアミノ酸配列は高度に保存されており相同性は 98%以上である。

本品は、C 群溶血レンサ球菌の SLO を遺伝子組換え技術により大腸菌で大量発現させ、高度に精製したものである。比活性は 1,900,000 hemolytic units (HU)/mg と高く、細胞膜上に大きな孔を形成するため、生細胞中にタンパク質を導入することが可能である（文献１）。成熟型 SLO は 60.4 kDa で、本品はタグがついていて 64.5kDa である。

データリンク　Swiss-Prot Streptolysin O

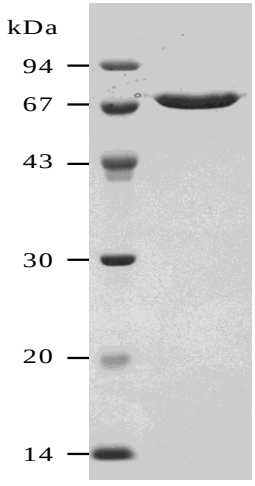

図 1.　SLO の SDS-PAGE による解析

バイオアカデミア(株)　Tel. 06-6877-2335　Fax.06-6877-2336　info@bioacademia.co.jp　http://www.bioacademia.co.jp/

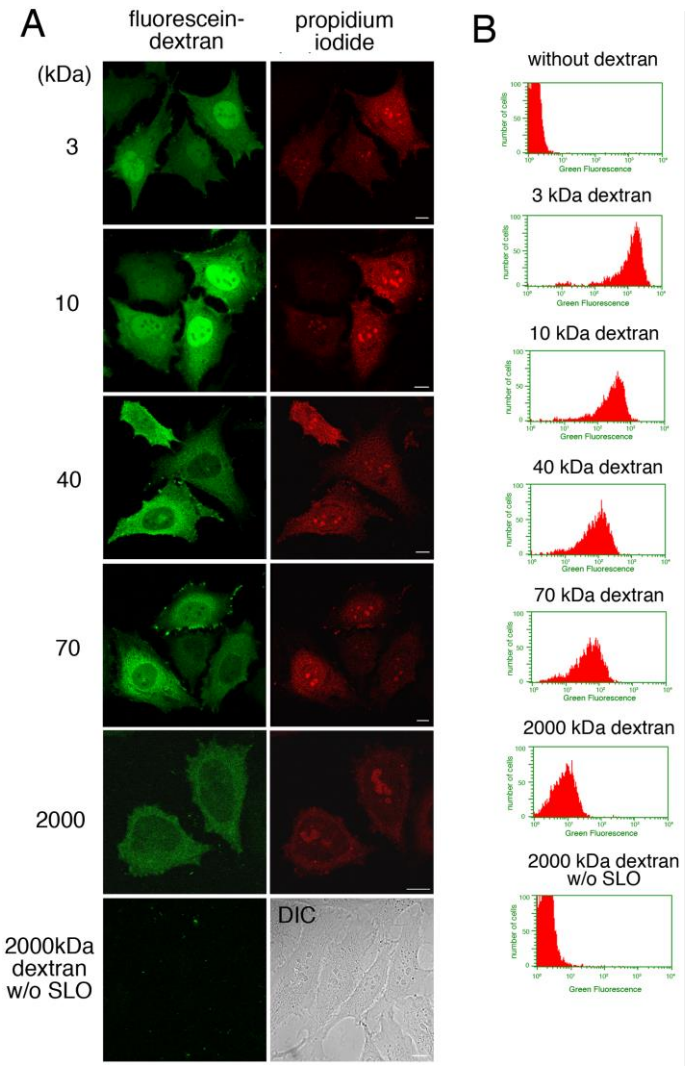

図２　種々の分子量の蛍光デキストランの再シールした細胞への導入

A. HeLa cells were incubated with or without (2000 kDa dextran w/o SLO) 0.13 μg/ml SLO on ice for 5 min. After wash with PBS three times, the cells were further with transport buffer containing propidium iodide at 32°C for 5 min. Semi-intact HeLa cells were incubated with 1.5 mg/ml L5178Y cytosol, an ATP regenerating system, GTP, glucose, and 100 μg/ml fluorescein-dextran of 3, 10, 40, 70, or 2000 kDa at 32°C for 15 min, and then were resealed by treatment with 1 mM $CaCl_2$ at 32°C for 5 min. After incubation with DMEM supplemented with FCS for 30 min, the cells were observed by confocal microscopy. Since the cells without SLO treatment did not contain the fluorescence of propidium iodide, differential interference contrast (DIC) image was shown. Bar = 10 μm. B. HeLa cells were treated as described in A, were trypsinized, and were subjected to flowcytometry. The histograms of fluorescein fluorescence of dextran with different molecular weight in PI-positive cells were shown.

Data from Kano F et al

A resealed-cell system for analyzing pathogenic intracellular events: perturbation of endocytic pathwaysunder diabetic conditions. PLoS One. 2012;7(8):e44127. doi: 10.1371/journal.pone.0044127. PMID::22952896

関連製品：01-531 **抗ストレプトリジン０抗体、ウサギポリクロ**

文献：本製品は文献３−１２に使用されています。

1. Walev, I. *et al.* “Delivery of proteins into living cells by reversible membrane permeabilization with streptolysin-O.” *PNAS* **98**: 3185-3190 (2001) PMID: 11248053 **生きた細胞にタンパク質を導入する方法**

2. Palmer, M. “The family of thiol-activated, cholesterol-binding cytolysins.” *Toxicon* **39**: 1681-1689 (2001) PMID: 11595631

3. Maeda, Y. et al. GPHR is a novel anion channel critical for acidification and functions of the Golgi

apparatus. Nat. Cell Biol. 10: 1135-45 (2008) PMID: 18794847 **Permeabilization of cells.**

4. Furukawa K. et al. Reduction-triggered fluorescent amplification probe for the detection **of**endogenous RNAs in living human cells. Bioconjug Chem. 2009 May 20;20(5):1026-36. PMID: 19374406 **Introduction of probes for RNA into permeabilized human HL cells**

5. Thiery J. et al. Perforin activates clathrin- and dynamin-dependent endocytosis, which is required for plasma membrane repair and delivery of granzyme B for granzyme-mediated apoptosis. Blood 2010 115:1582-1593. PMID: 20038786 **Promotion of endocytosis**

6. Kano F. et al. Hydrogen peroxide depletes phosphatidylinositol-3-phosphate from endosomes in a p38 MAPK-dependent manner and perturbs endocytosis. Biochim Biophys Acta. 2011 May;1813(5):784-801. PMID: 21277337. **Permeabilization of HeLa cells.**

7. Potez S. et al. Tailored protection against plasmalemmal injury by annexins with different Ca2+ sensitivities. J Biol Chem. 2011 May 20;286(20):17982-91. PMID:21454475 **Permeabilization of HEK cells.**

8. Kano F. et al. A resealed-cell system for analyzing pathogenic intracellular events: perturbation **of** endocytic pathways under diabetic conditions. PLoS One. 2012;7(8):e44127. PMID: 22952896 **Introduction of molecules into HeLa cells.**

9. Imai A. et al. MADD/DENN/Rab3GEP functions as a guanine nucleotide exchange factor for Rab27 during granule exocytosis of rat parotid acinar cells. Arch Biochem Biophys. 2013 Aug 1;536(1):31-7. PMID: 23702376. **Introduction of antibody into cell**

10. Gao N and Lehrman MA. Mannose-6-Phosphate: A Regulator of LLO Destruction. : Inka Brockhausen (ed.), Glycosyltransferases: Methods and Protocols, 2013, Springer, Methods in Molecular Biology, vol. 1022, DOI 10.1007/978- Inka Brockhausen (ed.), Glycosyltransferases: 1-62703-465-4_20. Link:.springer.com/protocol/10.1007 **Introduction of mannose-6-phosphate into living cells.** (The authors specifically recommend BioAcdemia streptolysin O for cell permeabilization)

11. Matsuto M et al. Reconstitution of the targeting of Rab6A to the Golgi apparatus in semi-intact HeLa cells: A role of BICD2 in stabilizing Rab6A on Golgi membranes and a concerted role of Rab6A/BICD2 interactions in Golgi-to-ER retrograde transport. Biochim Biophys Acta. 2015 Oct;1853(10 Pt A):2592-609. PMID: 25962623 **Introduction of protein (Rab6A) into permeabilized Hela cells.**

12. Yasuga H. et al. Logic gate operation by DNA translocation through biological nanopores. PLoS One. 2016 Feb 18;11(2):e0149667. PMID: 26890568 **Nanopore formation in bilayer lipid menmbrae.**

13. Ojima K. et al. Myosin substitution rate is affected by the amount of cytosolic myosin in cultured muscle cells. Anim Sci J. 2017 Nov;88(11):1788-1793. PMID:28631391 **Permeabilization of cells**

14. Kano F. et al. Establishment and phenotyping of disease model cells created by cell-resealing technique. Sci Rep. 2017 Nov 9;7(1):15167. PMID:2912317011. **Reversible permeabilization of plasma membrane**

15. Watanabe H. et al. Analysis of Pore Formation and Protein Translocation Using Large Biological Nanopores. Anal Chem. 2017 Nov 7;89(21):11269-11277. PMID:28980803. **Permeabilization for protein translocatio**

＊本品は研究用にのみご使用ください。ヒトをには用いないで下さい。ヒトをには用いないで下さい。

製品安全データシート　（MSDS）

製品名：大腸菌で発現した Hid6-TagO を N 末にもつ組換え体ストレプトィジン O（グループ C 溶血連鎖球菌由来）タンパク質（高度に精製したもの：　純度95%）

MSDS 日付け:2017 年 8 月 24 日

MSDS ナンバー: 01-531

責任会社：バイオアカデミア株式会社

住所: 大阪府吹田市山田丘３－１大阪大学微生物病研究所　北館３階

電話番号: +81-6-6877-2335

SLO のターゲット：ヒトや動物の細胞膜のコレストロール

健康に対する有害性**:**血流に多量に入ると致死的になる場合がある。

LD50 - Lethal dose (50 percent kill) intravenous,静脈注射での LD50

ウサギ, 1500 ng/kg (Ref :PHTHDT Pharmacology and Therapeutics.　(Pergamon Press Ltd.,Headington Hill Hall, Oxford OX3 0BW, UK)　Vol.(Issue) 11, Page 661,1981)

モルモット, 12 ug/kg (Ref: BICMBE Biochimie.　(SPPIF, B.P.22, F-41353 Vineuil, France, Vol.(Issue)55,Page 1187, 1973)

Toxicity is much less when introduced via other routes of entry like Interdermal injection

応急措置

飲んだ時: 多量の水で洗い出す。飲んで気分が悪くなったら医師の手当てを受ける。

眼に入った場合:目蓋を上げて多量の水であらう。刺激痛が続けば医師の手当てを受ける。.

皮膚に接触した場合: 石鹸と多量の水で洗う。

溢した場合: ゴム手袋をはめてこぼれて場所をふき取り、更に水で洗う。汚染された物は全て 121℃、20 分オートクレーブしてから廃棄する。

取扱いと保存上の注意 : :バイオハザード物質なので皮膚に傷がある場合は SLO を取り扱ってはいけない。

他の注意：SLO は十分性質が試されていないので注意して取り扱う必要がある。

暴露時の個人的対応

防御用手袋：化学物質に耐性の手袋:

眼の保護：ANSI 認可の化学工場の労働者ようのゴーグル。

他の防御用具：ANSI 基準に合った洗眼器及びシャワー

仕事場での衛生慣行：SLO を使用した後は手をよく洗う。

廃棄処理法：廃棄物は 121℃ 20 分オートクレーブしてから廃棄する。

規制情報：よく解明されていない物質なので注意が必要。

（Federal Regulatory Information:EUROPEAN INFORMATION）