ER 局在タンパク質を特異的に標識・精製するキット

ER-Protein Capture Kit

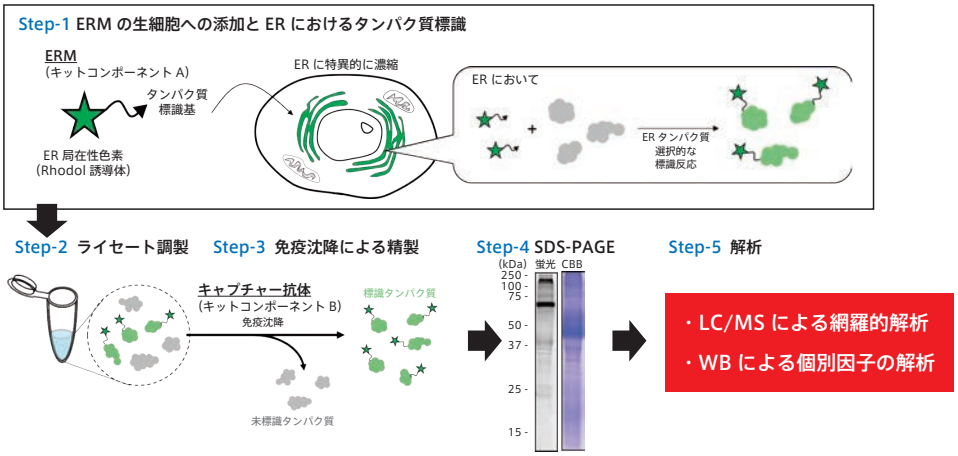
小胞体（ER）局在タンパク質を特異的に蛍光タグで標識し，そのタグキャプチャー抗体により標識タンパク質を免疫沈降法で精製できるキットです。ER 関連タンパク質の網羅的同定や ER ストレスなど刺激有無での標的タンパク質の ER 局在量の定量解析に有用です。

※本製品は京都大学工学研究科 浜地格教授・田村朋則講師の研究成果をもとにフナコシ(株)が製品化・販売しています。

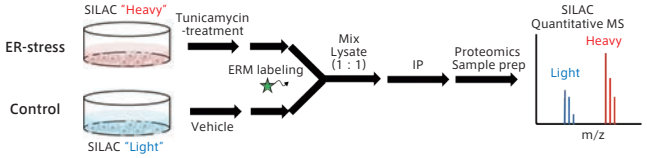
原著論文：Fujisawa A., *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **140** (49), 17060～17070 (2018). [PMID: 30433779]

原理とアッセイフロー

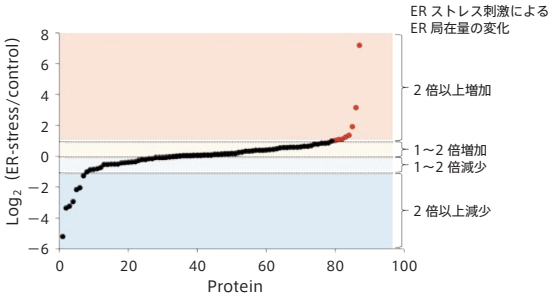
ER 局在性タンパク質標識試薬 ERM（キットコンポーネント A）は，ER 局在性緑色蛍光色素（Rhodol 誘導体）にタンパク質標識用官能基が付与された化合物です。ERM は生細胞に添加すると色素部分の特性により高い ER 局在性を示し，速やかに ER に濃縮されたのち，標識用官能基を介して ER タンパク質に蛍光タグを標識します（Step-1）。標識反応後に細胞を破砕して細胞ライセートを調製し（Step-2），タグキャプチャー抗体（抗 Rhodol 抗体，キットコンポーネント B）を用いて免疫沈降法を行う（Step-3）ことで，ERM で標識された ER タンパク質を選択的に回収することが可能です。回収したタンパク質は蛍光団がついているため，SDS-PAGE で分離後，CBB／銀染色または蛍光イメージャーで検出が可能です（Step-4）。SDS-PAGE で分離後は，LC/MS による網羅的なプロテオミクス解析，または任意の抗体にてウェスタンブロット法で ER タンパク質の同定が可能です（Step-5）。



使用例（ER ストレスによる ER 局在タンパク質の変動量の定量的評価）



ER ストレスが誘導する ER 局在タンパク質の変動量を SILAC 定量質量分析法により解析した。ER ストレス誘導試薬 Tunicamycin を添加して培養した細胞と，未処理の細胞を，それぞれ ERM（キットコンポーネント A）で処理した後，細胞ライセートを調製し，1：1 で混合した。混合ライセート中の標識タンパク質を，タグキャプチャー抗体（キットコンポーネント B）を用いて免疫沈降法で回収し，LC/MS 用サンプルを調製した。
87 タンパク質が相対定量可能なタンパク質として検出され，ER ストレスによる変動量を SILAC 法で算出した。うち 6 つのタンパク質が ER ストレス刺激により 2 倍以上 ER での存在量が増加していることが分かった。



品　名	メーカー	商品コード	包　装	価格（¥）
ER-Protein Capture Kit	FNA	FDV-0039	1 kit	60,000

キット内容：Kit component A（ER 局在性タンパク質標識試薬 ERM），Kit component B（タグキャプチャー抗体）

※免疫沈降に必要な試薬・バッファー類は含まれていません。別途ご用意下さい。

TEL 03-5684-1620 FAX 03-5684-1775 reagent@funakoshi.co.jp 試薬

価格・内容は発刊日現在です
掲載品はすべて研究用です