

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]

ここがすごい

小胞体タンパク質回収の難しさ

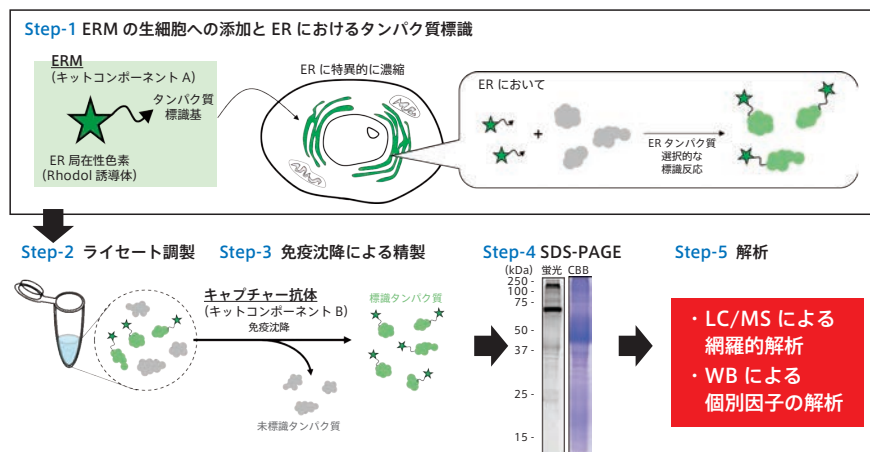
小胞体は細胞内でタンパク質の生成を担う中心的なオルガネラで、ポリペプチド鎖の合成、シャペロンタンパク質による適切な折りたたみ、異常タンパク質の排除など生成から品質管理まで重要な役割を担うと考えられています。

小胞体タンパク質を単離・同定し、定量解析できる手法の開発が期待されていますが、小胞体を特異的に精製する技術は乏しく、小胞体タンパク質を選択的に回収することは簡単ではありません。

小胞体局在性タンパク質標識試薬 ERM により、小胞体タンパク質を選択的に回収することが可能に！

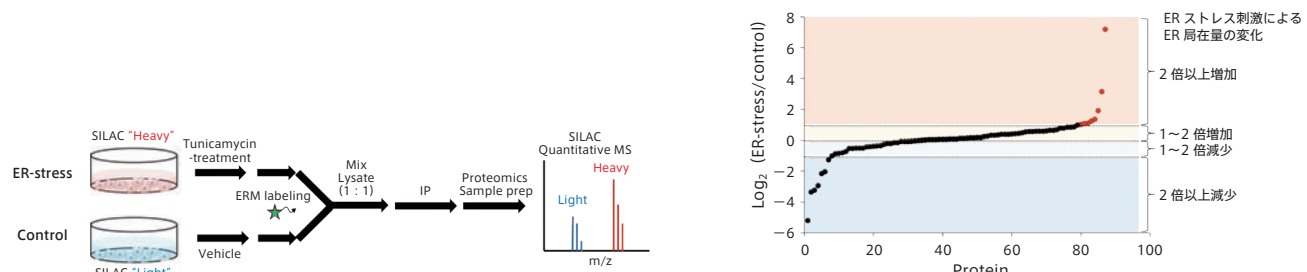
ER Protein Capture Kit に含まれる ER 局在性タンパク質標識試薬 ERM (ER-localizable Reactive Molecule) は、ER 局在性緑色蛍光色素 (Rhodol 誘導体) にタンパク質標識基が付与された化合物です。ERM を用いることで、小胞体局在タンパク質に蛍光性タグを標識できます。また、そのタグに対する特異的抗体で精製することにより小胞体タンパク質を選択的に回収することが可能です。

原理とアッセイフロー



- Step-1** 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-2** 標識反応後に細胞を破碎して細胞ライセートを調製します。
- Step-3** 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ことで、ERM で標識された ER タンパク質を選択的に回収できます。
- Step-4** 回収したタンパク質を SDS-PAGE で分離後、CBB/銀染色または蛍光イメージャーで検出できます。
- Step-5** その後は 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。

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 用試料を調製した。

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。

