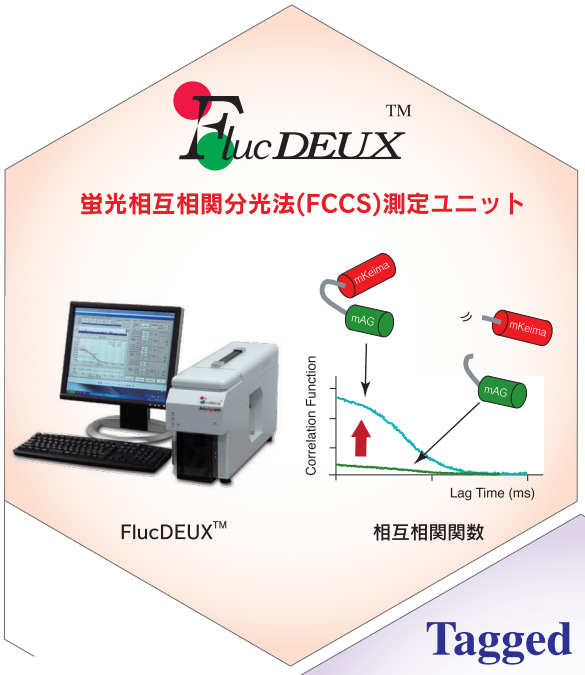
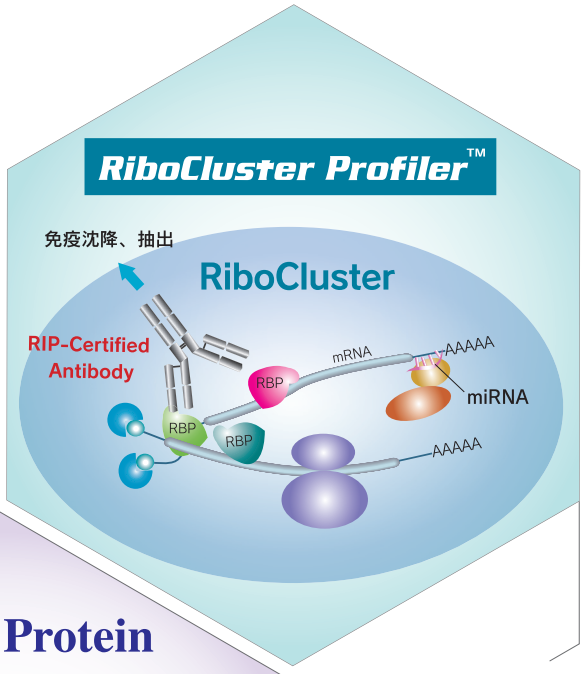
MBL RUO TOPICS

MBL
A JSR Life Sciences Company

研究用

vol. 2
Aug. 2011





液相中で分子間相互作用を検出する一分子蛍光観測技術です。*CoralHue*®mKeima-Red のようなストークスシフトの大きな蛍光タンパク質を利用することにより、一波長励起による FCCS が可能となりました。

タグ融合タンパク質を中性条件下で、簡便かつ高純度に精製可能にしたキットです。活性を保持して精製可能です。プルダウンアッセイにも応用できます。

RiboCluster とは、ある特定の疾患や機能に関連した mRNA や miRNA が RNA 結合タンパク質（RBP）と集合体（クラスター）を形成していると考える概念です。RiboCluster Profiler™ の製品群は、RNA と RBP の結合状態を網羅的に解析するために最適化されたツールです。

特集 分子間相互作用解析ツール

～FlucDUEX™、RiboCluster Profiler™、Tag 融合タンパク質精製 Kit～

Hot product ● キトトリオシダーゼ関連製品

〈Information〉 ◎学会情報 ◎新製品情報 ◎キャンペーン情報

* RUO は Research Use Only の略語となります。

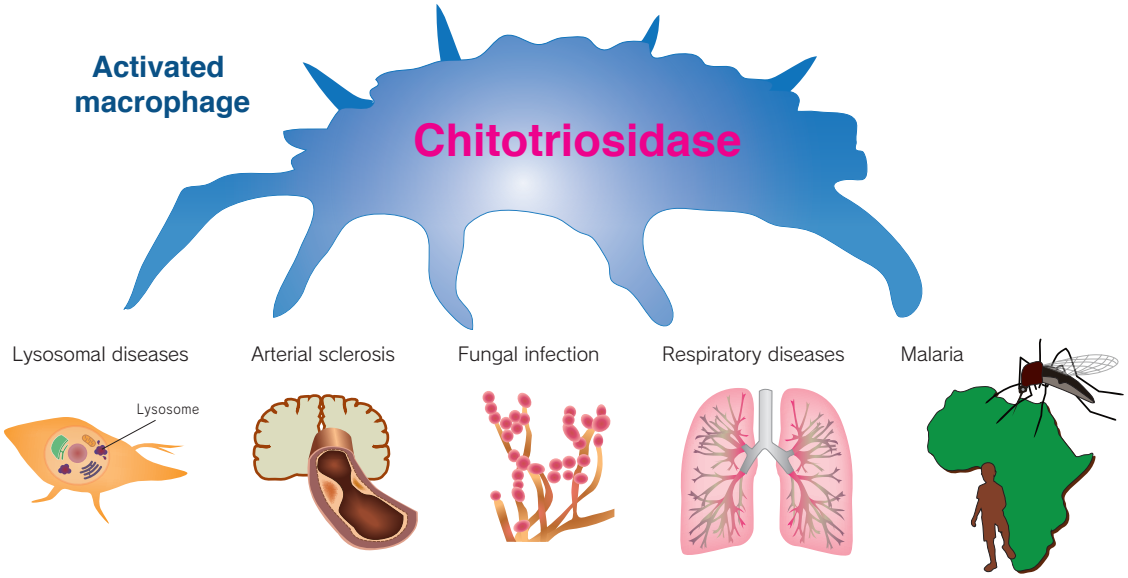
MBL 株式会社 医学生物学研究所
https://ruo.mbl.co.jp/

Hot Product

CircuLex™ Human Chitotriosidase ELISA Kit

CycLex® Chitotriosidase Fluorometric Assay Kit

キチン分解酵素であるキトトリオシダーゼはマクロファージ活性化のバイオマーカーとして有用です。種々の疾患におけるマクロファージの過剰な活動とキトトリオシダーゼ活性は相関することから、キトトリオシダーゼ活性あるいは蛋白量の定量測定系はマクロファージが関与する病態の推移や治療効果のモニタリングに利用できる可能性があります。



● マクロファージ活性化の指標：キトトリオシダーゼ

キチンの分解酵素として知られるキトトリオシダーゼは種々の疾患にて検出されますが（右表：関連疾患）、元々はライソゾーム病の一種であるゴーシェ病で発見されました(1-3)。ゴーシェ病の特徴として様々な臓器において活性化マクロファージの集積が確認されますが、キトトリオシダーゼ活性はこのマクロファージに由来します(3)。アテローム性動脈硬化症においても、血清キトトリオシダーゼが上昇します。この酵素活性は動脈硬化層の血管内皮下に浸潤した脂質蓄積マクロファージの活性化と関連しています（4,5)。

すなわちマクロファージが関与する疾患の病態とキトトリオシダーゼ活性とは相関していると考えられ、これら病態の推移や治療効果の判定にキトトリオシダーゼ活性あるいは酵素量の定量測定は有用と考えられます（6)。

キトトリオシダーゼ関連疾患

ライソゾーム病など
- Type I Guacher disease
- Fabry disease
- Lysosomal storage disorders
- Type B Niemann-Pick disease
- Nephropathic cystinosis
- X-linked globotriaosylceramidosis

心臓・循環器系疾患
- Coronary Artery Disease
- Cardiovascular Events
- Atherosclerosis
- Heterozygous familial hypercholesterolemia

感染症
- Acute Plasmodium falciparum malaria
- Bacillary leprosy
- Crimean-Congo hemorrhagic fever
- Pulmonary Tuberculosis
- Visceral Leishmaniasis

呼吸器疾患
- Allergic and Non-Allergic Asthma
- COPD
- Interstitial lung diseases

血管疾患
- Beta-thalassemia

脳神経疾患
- Alzheimer's disease
- Ischemic cerebrovascular dementias
- Acute Ischemic Stroke
- Aneurysmal Subarachnoid Haemorrhage
- Inflammatory Processes in Neurological Diseases

自己免疫疾患
- Juvenile idiopathic arthritis
- Multiple sclerosis

肝臓疾患
- Non-alcoholic fatty liver disease (NASH)
- Hepatic fibrosis

全身性疾患
- Granulomatous disease
- Sarcoidosis
- Wegener's granulomatosis

がん
- Primary prostate cancer with high Gleason score

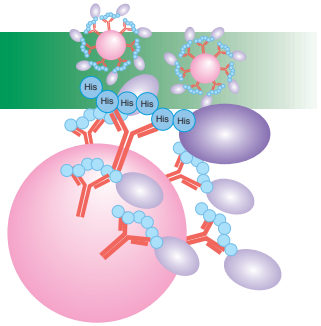
その他
- Arteriogenic Erectile Dysfunction
- Colostrum
- Healthy Elderly Subjects

（文献）

1. Boot RG, *et al.*: J Biol Chem,270(44):26252-6,1995 [PubMed:7592832]
2. Hollak CE, *et al.*: J Clin Invest,93(3):1288-92,1994 [PubMed:8132768]
3. Artieda M, *et al.*: Arterioscler Thromb Vasc Biol,23(9):1645-52,2003 [PubMed:12893688]
4. Hakala BE, *et al.*: J Biol Chem,268(34):25803-10,1993 [PubMed:8245017]
5. Boot RG, *et al.*: Arterioscler Thromb Vasc Biol,19(3):687-94,1999 [PubMed:10073974]
6. Vedder AC, *et al.*: Mol Genet Metab,89(3):239-44, 2006 [PubMed:16765076]

コードNo.	製品名	包装	希望納入価格
CY-1249	CycLex® Chitotriosidase Fluorometric Assay Kit	100 assays	￥70,000
CY-8074	CircuLex™ Human Chitotriosidase ELISA Kit	96 assays	￥98,000
CY-E1249	Chitotriosidase (Human, Active)	10 μg	￥60,000

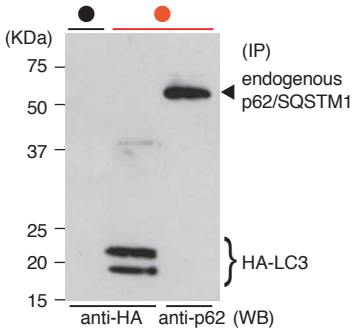
Tagged Protein PURIFICATION KIT



- 抗原抗体反応を利用して中性条件下で短時間に精製できます
- 活性や構造を保持したままのタンパク質を得られます
- プルダウンアッセイに応用できます

使用例１：
内在性タンパク質のプルダウンアッセイ

HA tagged Protein PURIFICATION KIT
(MBL code no.3320)使用

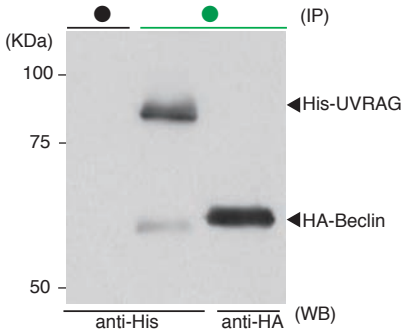


Sample：293T/HA-tagged LC3
IP：　●: Mouse IgG1 Isotype-Agarose (MBL:M075-8)
　　●: HA tagged Protein PURIFICATION KIT-Agarose (MBL:3320)
溶出：　HA-tag ペプチド 4°C、5分
WB：　anti-HA (MBL:code no.561)
　　anti-p62 (MBL:code no.PM045)

p62/SQSTM1 はオートファゴソームマーカーである LC3 に直接結合し、オートファジーにより選択的に分解される事がわかっています。HA-LC3 トランスフェクタントを用いて、LC3 と内在性 p62/SQSTM1 とのプルダウンアッセイを行いました。

使用例2：
強制発現タンパク質のプルダウンアッセイ

His tagged Protein PURIFICATION KIT
(MBL code no.3310) 使用



Sample：293T/His-tagged UVRAG, HA-tagged Beclin1
IP：　●: Mouse IgG1 Isotype-Agarose (MBL:M075-8)
　　●: His tagged Protein PURIFICATION KIT-Agarose (MBL:3310)
溶出：　His-tag ペプチド 室温、30分
WB：　anti-His (MBL:code no.PM032)
　　anti-HA (MBL:code no.561)

オートファジーに必須な Beclin1 タンパクは UVRAG や、Vps34 など多数のタンパクと相互作用し、オートファジーの調節ポイントとなっていることが示唆されています。本検討では、HA tagged Beclin1/Myc-His tagged UVRAG トランスフェクタントを用いて、Beclin1 と UVRAG とのプルダウンアッセイを行いました。

コードNo.	製品名	包装	希望納入価格
3305	c-Myc tagged Protein MILD PURIFICATION KIT Ver.2	20 columns	￥75,000
3305A	c-Myc tagged Protein MILD PURIFICATION KIT Ver.2 (Trial Kit)	2 columns	￥9,800
3306	c-Myc tagged Protein MILD PURIFICATION GEL	gel 1 mL, peptide 1 mg	￥98,000
3307	c-Myc tagged Protein MILD PURIFICATION GEL	gel 1 mL x 5, peptide 1 mg x 5	￥248,000
3300-205	c-Myc tag peptide (EQKLISEEDL)	1 mg x 5	￥40,000
3310	His tagged Protein PURIFICATION KIT	20 回	￥75,000
3310A	His tagged Protein PURIFICATION KIT Trial Kit	2 回	￥9,800
3311	His tagged Protein PURIFICATION GEL	gel 1 mL x 1, peptide 2 mg x 5	￥98,000
3312	His tagged Protein PURIFICATION GEL	gel 1 mL x 5, peptide 2 mg x 25	￥248,000
3310-205	His tag peptide	2 mg x 5	￥20,000
3315	V5 tagged protein PURIFICATION KIT	20 回	￥75,000
3315A	V5 tagged protein PURIFICATION KIT Trial Kit	2 回	￥9,800
3320	HA tagged Protein PURIFICATION KIT	20 回	￥75,000
3320A	HA tagged Protein PURIFICATION KIT Trial Kit	2 回	￥9,800
3325	DDDDK tagged Protein PURIFICATION KIT	20 columns	Coming soon
3325A	DDDDK tagged Protein PURIFICATION KIT Trial Kit	2 columns	Coming soon
3326	DDDDK tagged Protein PURIFICATION GEL	Gel 1 mL, Peptide 1 mg	Coming soon
3327	DDDDK tagged Protein PURIFICATION GEL	Gel 1mL x 5, Peptide 1mg x 5	Coming soon
3325-205	DDDDK peptide	1 mg x 5 本	Coming soon

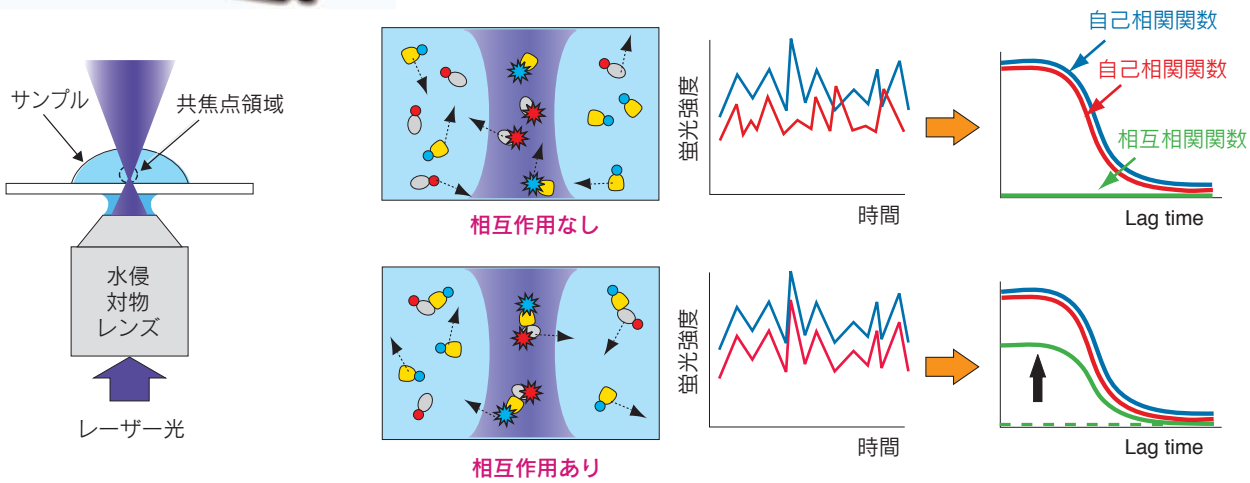
FlucDEUX™ (Fluctuation Dual Emission Uni-laser eXcitation)

～蛍光相互相関分光法
（Fluorescence Cross Correlation Spectroscopy; FCCS）測定ユニット～

FlucDEUX™ Amalgaam

- 液相中での分子間相互作用解析
- Mix & Read ホモジニアス測定系

蛍光相互相関分光法（FCCS）とは、液相中で分子間相互作用を検出する一分子蛍光観測技術です。
相互作用を見たい２種の分子をそれぞれ異なる蛍光色素で標識し、共焦点領域中での拡散に由来する２つの蛍光信号のゆらぎを解析します。相互作用に応じてゆらぎの同時性が生まれ、その同時性から相互相関関数を算出し、相互作用を検出することができます。



FCCSによるカルモジュリン/M13ペプチドのCa^{2+}依存性相互作用の検出

Ca^{2+} がカルモジュリン（CaM）と結合すると、カルモジュリンはミオシン軽鎖キナーゼの C 末端（M13 ペプチド）と相互作用することが知られています。その結果として、ミオシン軽鎖キナーゼは活性化し、ミオシン軽鎖のリン酸化をおこすことで筋収縮がおこります。今回、Ca^{2+} 依存性相互作用である CaM/M13 の相互作用を FCCS で検出しました。

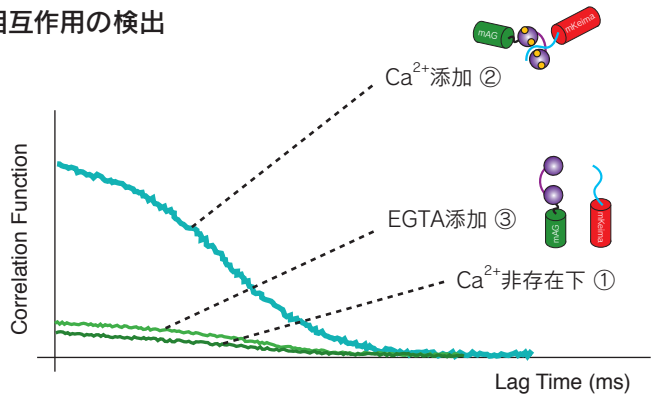


図１ mAG-CaM/M13-mKeimaの相互相関関数

コードNo.	製品名（ベクター）	包装	励起最大波長	蛍光最大波長	希望納入価格
AM-V0091/94	mKeima *CoralHue*® monomeric Keima-Red	20 μg	440 nm	620 nm	￥28,000
AM-V0031/34	mAG *CoralHue*® monomeric Azami-Green1	20 μg	492 nm	505 nm	￥28,000

CoralHue® 蛍光タンパクシリーズは、独立行政法人 理化学研究所 脳科学総合研究センター 細胞機能探索技術開発チーム（宮脇敦史チームリーダー）との共同研究で開発されたものであり、MBLが実施権を有しAmalgaamにライセンスされています。

RiboCluster Profiler™ ～遺伝子発現の転写後調節の新規解析ツール～

RNA 結合タンパク質（RBP）は、mRNA のスプライシング、核外輸送、細胞質内局在、安定性及び翻訳効率の調節などの転写後遺伝子発現制御において重要な働きをしています。また、特定の疾患や機能に関連した mRNA や miRNA などは、RBP を介してクラスター（RiboCluster）を形成していると考えられています。RiboCluster Profiler™ は、特定の疾患や生物学的に関連した遺伝子群を網羅的に解析するツールです。どの分野で研究している方でもスムーズに RNA 研究分野に入っていただけるように設計されています。
特定の疾患や組織に興味がある場合、まず RiboChip によって疾患・組織特異的 RBP を見つけます。次に、標的 RBP に対する抗体で RBP と RNA の複合体 (RNP) を免疫沈降 (RIP) し、結合していた RNA を抽出します。MBL では、RBP に結合している RNA を網羅的に解析するキット：RIP-Assay Kit 、RIP-Assay Kit *for microRNA* と、RIP-Assay に使えることが実証された RBP に対する抗体：RIP-Certified Antibody を各種取り揃えております。また、ある特定の遺伝子に興味があり、その RNA の制御機構に関連するタンパク質を同定したい場合、RiboTrap によってその RNA に結合する RBP を同定することが可能で、MBL の RiboTrap Kit をご利用いただけます。

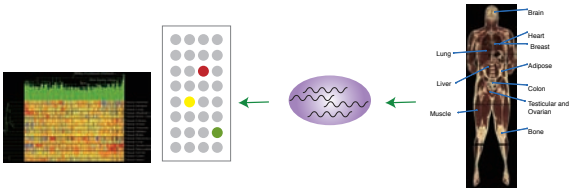
RiboCluster Profiler™

RIP-Chip 技術は Ribonomics, Inc. の特許技術 (USP# 6,635,422、USP# 7,504,210) です。MBL は Ribonomics, Inc. からワールドワイドな通常実施権を得てキットを開発しています。

Reference: Dale L. Beach and Jack D. Keene, Methods Mol. Biol., 419: 69-91 (2008)

RiboChip

興味ある疾患や組織に
特異的な RBP を見つけたい場合

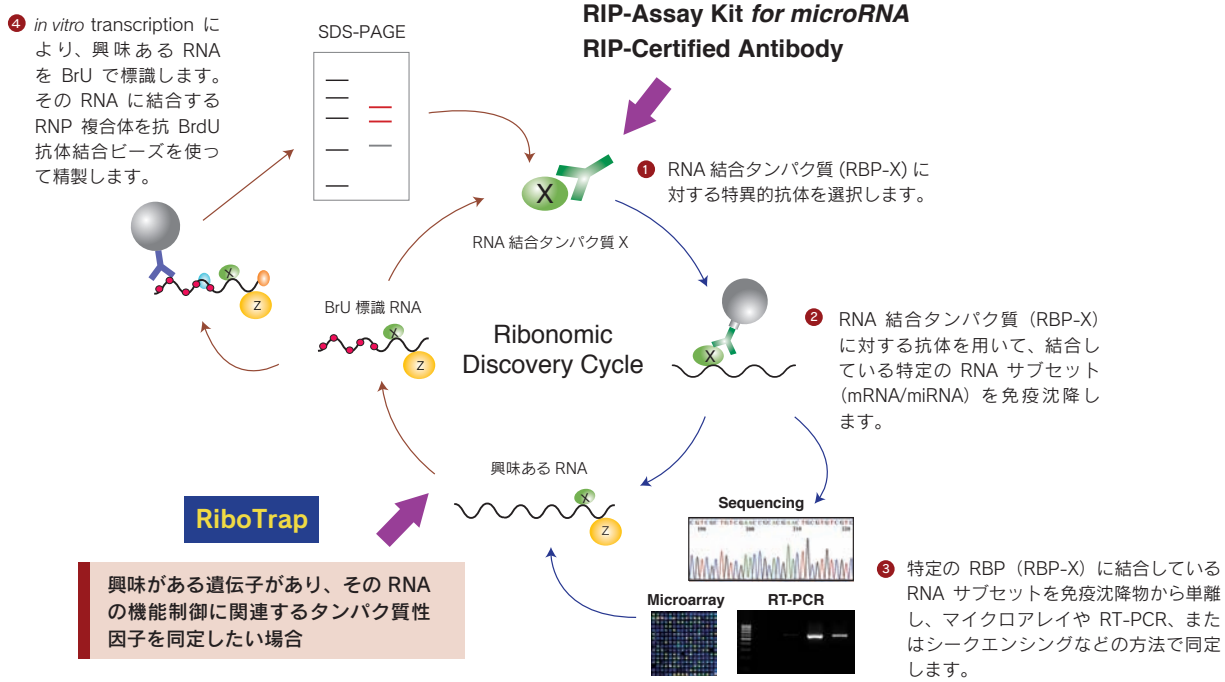


RiboChip を使って興味ある組織、細胞や疾患で発現している RBP を調べ、組織、細胞あるいは疾患特異的な RBP を見つけた後、Cycle に入ります。

RIP-Chip

興味ある RBP があり、その RBP によって時空間的な制御を受けている RNA サブセット (mRNA/miRNA) を同定したい場合

RIP-Assay Kit
RIP-Assay Kit *for microRNA*
RIP-Certified Antibody



RiboTrap

興味がある遺伝子があり、その RNA の機能制御に関連するタンパク質性因子を同定したい場合

RiboTrap Kit

コードNo.	製品名	包装	希望納入価格
RN1001	RIP-Assay Kit	10 assays	¥40,000
RN1005	RIP-Assay Kit *for microRNA*	10 assays	¥60,000
RN1011/RN1012*	RiboTrap Kit	10 assays	¥78,000

＊RN1011とRN1012はセット販売となっております。またRN1011とRN1012は保存温度が異なりますのでご注意ください。RN1011：-20℃　RN1012：2-8℃

RIP-Certified Antibody、RBP antibodyも各種取り揃えております。
詳細はこちらから ☞ https://ruo.mbl.co.jp/product/epigenetics/rip-assay.html

詳しくは
MBL　RIP　検索

Information

キャンペーンのお知らせ

●糖鎖解析受託サービス 一次解析キャンペーン

約600種を超える標準糖鎖、データベースGALAXYとグライエンス社独自の技術により、詳細な糖鎖構造の解析を行います。

・一次解析：500,000円 ➡ **298,000円 (約40%OFF!)**

(解析内容：酵素処理、DEAEおよびODSカラム分析、MALDI-TOF MS分析まで)

2011年 10月31日 お申し込み分まで

●ポリクローナル抗体 Affinity精製キャンペーン

ペプチド抗体の反応性を改善したいとお考えのお客様へ！
スタンダードサービスのAffinity精製作業が **50%OFF!**

2011年 10月31日 お申し込み分まで

●RiboCluster Profiler™ 関連製品キャンペーン

RiboCluster Profiler関連全製品 **30%OFF!** 以下の製品が対象となります。

・RIP-Assay Kit ・RIP-Assay Kit *for microRNA* ・RIP-Certified Antibody ・RiboTrap Kit

2011年 10月31日 お申し込み分まで

●質量分析受託サービス ショットガン解析キャンペーン

下記ショットガン解析が **20%OFF!** これを機会にぜひお試しください。

・粗精製タンパク質画分からの同定解析 ・免疫沈降サンプルからの同定解析
・リン酸化タンパク質からの同定解析 ・ITRAQ標識試薬を用いた網羅的比較定量解析
・SILAC標識試薬を用いた比較定量解析

2011年 12月22日 お申し込み分まで

アウトレットセール開設！

製品有効期限が短くなった製品などお得なプライスでご提供いたします。
詳しくは、下記webページをご覧ください。
https://ruo.mbl.co.jp/news/outlet.html

バナーをクリック！

学会情報

- RNAフロンティアミーティング2011 (2011年8月30日-9月1日 あいち健康プラザ) ：協賛
- 第84回 日本生化学会大会 (2011年9月21-24日 国立京都国際会館) ：出展
- 第70回 日本癌学会学術総会 (2011年10月3-5日 名古屋国際会議場) ：出展/ランチョンセミナー
- 第47回 日本移植学会総会 (2011年10月4-6日 仙台国際センター) ：出展

＊その他学会にも出展いたします。詳細はお問い合わせください。

Copyright © 2011 MEDICAL & BIOLOGICAL LABORATORIES CO., LTD. All Rights Reserved.

2011.08 151094-19101000

MBL 株式会社 医学生物学研究所
A JSR Life Sciences Company https://ruo.mbl.co.jp/
◎ LSTR事業部
〒105-0012
東京都港区芝大門2丁目11番8号 住友不動産 芝大門二丁目ビル
TEL：03-6854-3614 E-mail：support@mbl.co.jp