

## ストレプトリジンO 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 µg

**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) ウェスタン 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600,000~1,000,000 hemolytic units (HU)/mg (Lotによる) で、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64.5 kDaである。

**データリンク** Swiss-Prot [Streptolysin O](#)

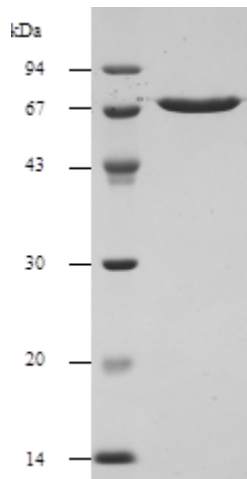


図1. SLOのSDS-PAGEによる解析

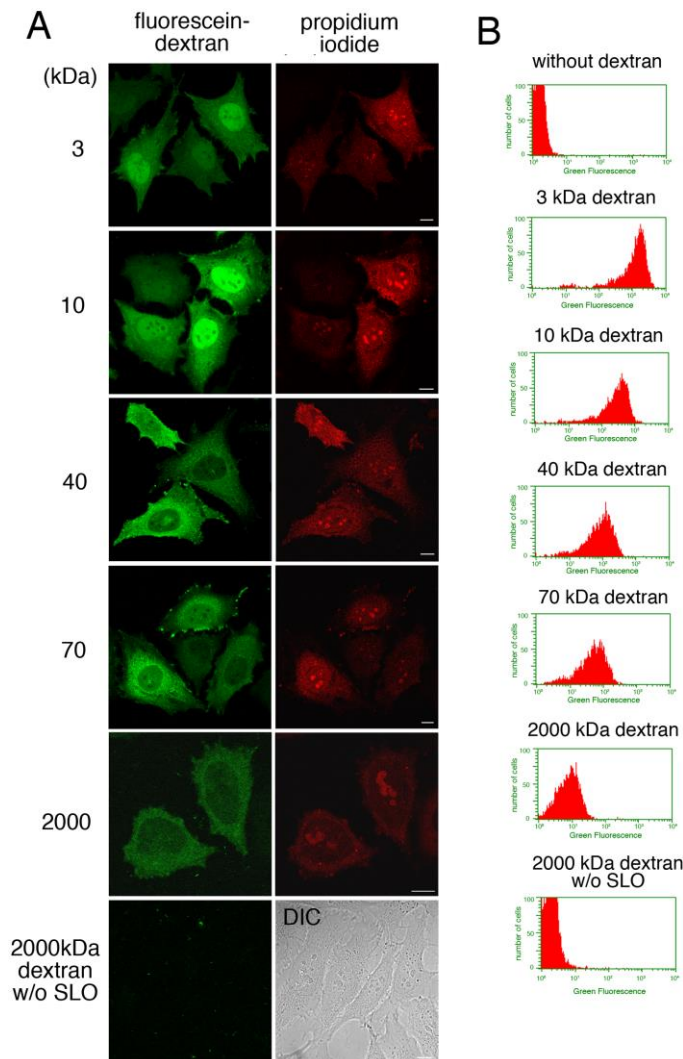


図2 種々の分子量の蛍光デキストランの再シールした細胞への導入

A. HeLa cells were incubated with or without (2000 kDa dextran w/o SLO) 0.13  $\mu\text{g}/\text{ml}$  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  $\mu\text{g}/\text{ml}$  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  $\text{CaCl}_2$  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  $\mu\text{m}$ . 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 pathways under diabetic conditions. [PLoS One](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044127). 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O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 Ca<sup>2+</sup> 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](http://springer.com/protocol/10.1007) **Introduction of mannose-6-phosphate into living cells.** (The authors specifically recommend BioAcademia 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 membranes.**
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:[29123170](#) **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 translocation**

\*本品は研究用にご使用ください。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 (SDS)

**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イジン 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:** 石鹼と多量の水で洗う。

**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°C、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りのゴーグル。

**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°C 20 分オートクレーブしてから廃棄する。

**規制情報:** よく説明されていない物質なので注意が必要。

(Federal Regulatory Information:EUROPEAN INFORMATION)