

抗 Rad51 抗体, ウサギ抗血清

70-001 50 μ l, 70-002 250 μ l

保存: 4°Cまたは-20°Cで送付, -20°Cで保存

免疫原: 完全長ヒト Rad51 タンパク質 (バイオアカデミア [10-001](#))

形状: 0.09% アジ化ナトリウムを含むウサギ抗血清

反応性: ヒト、マウス、ラット、ハムスター、ニワトリ、カエル

用途

1. ウェスタンブロッティング (1,000~10,000 倍希釈)
 2. 免疫沈降(100~300 倍希釈). 種々のタンパク質との相互作用や新規の結合タンパク質が同定出来る。
 3. 免疫蛍光染色 (1/100-1/6,000 希釈)
- *免疫組織染色には免疫原でアフィニティ精製した抗 Rad51 抗体,ウサギポリクローナル (バイオアカデミア [70-012](#)) を推奨。

背景: ヒトの Rad51 タンパク質は大腸菌の RecA タンパク質や酵母 Rad51 タンパク質の機能的及び構造的ホモログであって、相同的組換え及び組換え修復において中心的な役割を果たし、相同な DNA 鎖の交換反応を促進する機能をもっている。Rad51 のパラログとして、Dmc1, Rad51B, Rad51C, Rad51D, XRCC2, XRCC3 が知られておりこれらは Rad51 や Rad52 と複合体を形成して、組換え反応に関与している。更にヒト Rad51 タンパク質は乳ガン原因タンパク質 BRACA1, BRACA2 や癌抑制タンパク質として有名な P53 と結合する事が知られていて、ゲノムの情報の安定的維持に重要な役割を果たしている。

データリンク UniProtKB/Swiss-Prot [Q06609](#) (RAD51_HUMAN)

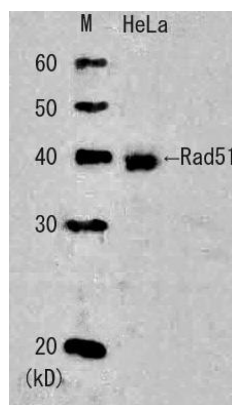


図1 抗 Rad51 抗血清を用いたウェスタンブロット法による HeLa 細胞中の Rad51 タンパク質の検出

レーン M: 分子量マーカー (kD)
レーン 1: HeLa 細胞溶解液

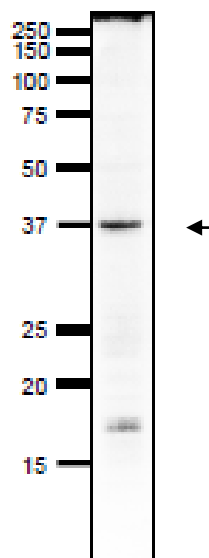


図2 アフリカツメガエル卵抽出液中の Rad51 タンパク質のウェスタンブロット法による検出
抗体は 1/1,000 希釈で用いた。

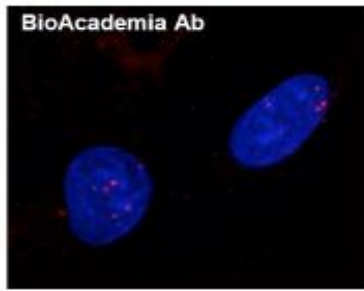


図3 DNA 損傷後の Rad51 フォーカス形成の検出

正常ヒト二倍体細胞を X 線照射後(0.5 Gy)6 時間培養し Rad51 タンパク質のフォーカス形成を、抗ヒト Rad51 抗体 (×100 倍希釈)を一次抗体として、また Alexa 594 標識ウサギ抗体 (×1000 倍希釈)を二次抗体として用いて染色し、蛍光顕微鏡下で撮影した。(長崎大・医・鈴木啓司教授 提供)

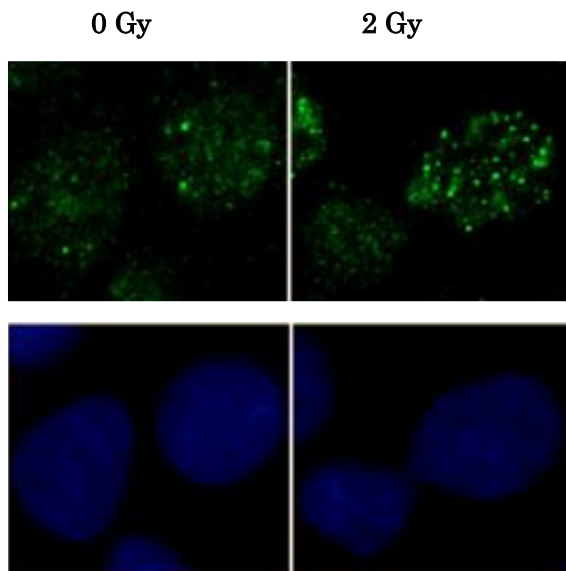


図4 DNA 損傷によって誘導される Rad51 フォーカスの検出。

X 線照射前と照射後 2 時間のヒト骨肉腫細胞 U2OS 細胞の免疫蛍光染色。抗 Rad51 抗体は 1/6,000 希釈で用いた。下のパネルは Hoechst 染色像。

抗 Rad51(ヒト)抗体を用いて、DNA 損傷細胞の染色体上のフォーカス形成を観察するためのプロトコール。(長崎大・医 鈴木教授提供)

1. ガラススリップ上で細胞を少なくとも 24 時間インキュベートする。
2. PBS で細胞を 1 回洗浄する。
3. 氷上で 10 分間、細胞を冷メタノールで固定する。
4. PBS で細胞を洗浄する。
5. 0.5% Triton X-100 で細胞を 5 分間氷上でインキュベートする。
6. PBS で細胞を広範囲に洗浄する。
7. TBS-DT (TBS: 20mM Tris-HCl, pH7.6, 137mM NaCl, 0.1% Tween-20 および 5% Skim milk 含有)で希釈した抗 Rad51 抗体(1:100)で細胞をインキュベートする。
8. PBS で細胞を洗浄する。
9. Alexa594 標識抗ウサギ抗体を TBS-DT で希釈(1:1000)し、細胞をインキュベートする。

上記に加えて;

1. 細胞の種類によって異なる固定法を採用しなければならない。
2. バックグラウンドが高い場合には、異なるブロッキング試薬を試みる必要がある。
3. DNA ダメージがない場合、Rad51 は核全体に局所的に分散しているが、Rad51 は二重ストランド DNA ブレイクまたは停滞した複製フォークを持つ色相に焦点を当てるにつれて蓄積する。

文献: 本抗体は以下の論文で使用されている。

1. Nakano T et al, Homologous Recombination but Not Nucleotide Excision Repair Plays a Pivotal Role in Tolerance of DNA-Protein Cross-links in Mammalian Cells. *J. Biol. Chem.* 284:27065-27076 (2009) .[JBC open access pdf](#) **IF (human)**
2. Vaz F et al, Mutation of the *Rad51C* gene in a Fanconi anemia-like disorder. *Nature Genetics* 42:406-409 (2010) PMID: [20400963](#) **IF (human)**
3. Nakada S. et al. RNF8 regulates assembly of RAD51 at DNA double-strand breaks in the absence of BRCA1 and 53BP1. *Cancer Res.* 2012 Oct 1;72(19):4974-83. **WB, IF (human)**
4. Shima H. *et al*, Activation of the SUMO modification system is required for the accumulation of RAD51 at sites of DNA damage. *J Cell Sci.* 126: 5284-92 (2013) PMID: [24046452](#) **IF, WB (human)**
5. Okimoto S. et al. hCAS/CSE1L regulates RAD51 distribution and focus formation for homologous recombinational repair. *Genes Cells* 20, 681–694, (2015) **IF (human)**
6. Kobayashi S. et al. Rad18 and Rnf8 facilitate homologous recombination by two distinct mechanisms, promoting Rad51 focus formation and suppressing the toxic effect of nonhomologous end joining. *Oncogene* 34, 4403-4411 (2015) **IF (human)**
7. Hoa N N. BRCA1 and CtIP Are Both Required to Recruit Dna2 at Double-Strand Breaks in Homologous Recombination. *PLOS one.*: April 24, 2015. [10.1371/journal.pone.0124495](#) **IF (chicken)**
8. Tada K. et al. Abacavir, an anti-HIV-1 drug, targets TDP1-deficient adult T cell leukemia. *Science Advances* 24 Apr 2015:Vol. 1, no. 3, e1400203DOI: 10.1126/sciadv.
9. Orthwein A et al. A mechanism for the suppression of homologous recombination in G1 cells. *Nature.* 2015 Dec 17;528(7582):422-6. **IF (human)**
10. Ning-Ang Liu. Regulation of homologous recombinational repair by lamin B1 in radiation-induced DNA damage. *FASEB J.* 2015 Jun;29(6):2514-25. **WB, IP, IF, (human)**

11. Walser F et al. Ubiquitin Phosphorylation at Thr12 Modulates the DNA Damage Response. Mol Cell. 2020 Sep 29:S1097-2765. PMID: [33022275](#). IF (human)

関連製品：

[10-001](#) Rad51 タンパク質 (ヒト) [10-003](#) Rad52 タンパク質 (ヒト)

[70-005](#) 抗 Rad51 抗体、ニワトリ IgY

[70-007](#) 抗 Rad51 抗体、Sephrose-conjugated IgY

[70-012](#) 抗 Rad51 抗体、抗原 affinity 精製、ウサギポリクローナル