

抗 VRK1 (ヒト) 抗体、マウスモノクローナル(5D1)

71-600 100 µg

保存: 4°Cまたは-20°Cで送付、-20°Cで保存。凍らせない。

抗原: ヒトの VRK1 タンパク質の N 末端の配列(MPRVKAAQAGRQSSAKRHL-C)の合成ペプチド。

形状: 1 mg/ml in PBS⁻ with 50% glycerol, フィルタ除菌済。

精製: 無血清培地で生産し、緩やかな条件のもとで当社独自のクロマトグラフィーにより精製したマウスモノクローナル抗体(5D1)。純度は 90~98%

アイソタイプ: mouse G1 κ

反応性: ヒトの VRK1 タンパク質。 マウス (NIH 3 T 3 細胞) とは反応しない。

用途

1. ウェスタンブロット法(1/500~1/1,000 希釈)。 本抗体には高感度の化学発光試薬である Lumi-Light Plus (Roche)、ImmunoStar®LD, ImmunoStar® Zeta (和光純薬)などの使用を推奨する。
2. 免疫沈降
3. 免疫蛍光染色(1/100 希釈)
4. 免疫組織化学
5. ELISA

背景: 機能: VRK1(Vaccinia-Related Kinase 1; 396 aa, 45.5 kDa)はセリン/トレオニンキナーゼでゴルジ体の断片化を誘発するために必要で、有糸分裂中に PLK3 によるリン酸化を受けた後に細胞周期中のゴルジ体の解離に関与する。下流標的タンパク質 53/TP53 の「Thr-18」のリン酸化を介し、p53/TP53 と MDM2 の間の相互作用を妨げる可能性がある。また、カゼインおよびヒストン H3 もリン酸化する。BANF1 のリン酸化は DNA に結合する能力を失わせ、LEM ドメイン含有タンパクに結合する能力を低下させ、核から細胞質への移行を引き起こす。

VRK1 の異常と疾患の関連性; VRK1 の欠損は脳橋小脳形成不全型 1A(PCH1A)、別名、乳児脊髄性筋萎縮症を伴う橋小脳形成不全又は前角細胞疾患を伴う橋小脳形成不全の原因である。PCH1A は出産時から異常に小さく小脳および脳幹、中央および末梢神経運動機能障害をもつことが特徴で、グリオーシスおよび前角細胞変性は乳児脊髄性筋萎縮症に似ている。

データベース・リンク;; [SwissProt: Q99986](#) Human ,
[Entrez Gene: 7443](#) Human

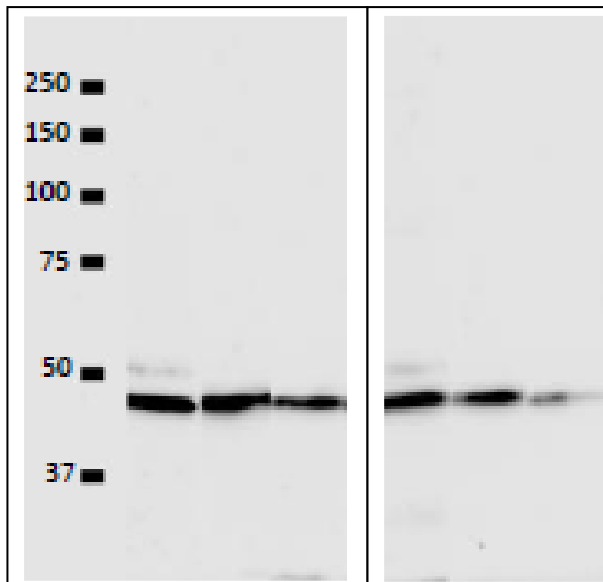


図 1. ヒト細胞の粗抽出液中の VRK1 タンパク質のウェスタンブロット法による検出。レーン 1、2、3： HeLa 細胞抽出液 (5×10^4 細胞)、夫々 1/100、1/500、1/1000 希釈した抗体を用いた。レーン 4、5、6： U2OS 細胞抽出液 (5×10^4 細胞)、夫々 1/100、1/500、1/1,000 希釈した抗体を用いた。2 次抗体として Alexa488 コンジュゲートした抗マウス IgG ヤギ抗体を用いた。発光試薬として ImmunoStar®LD (和光純薬、大阪) を使いバイオラド製 ChemiDocXRS で画像を撮った。

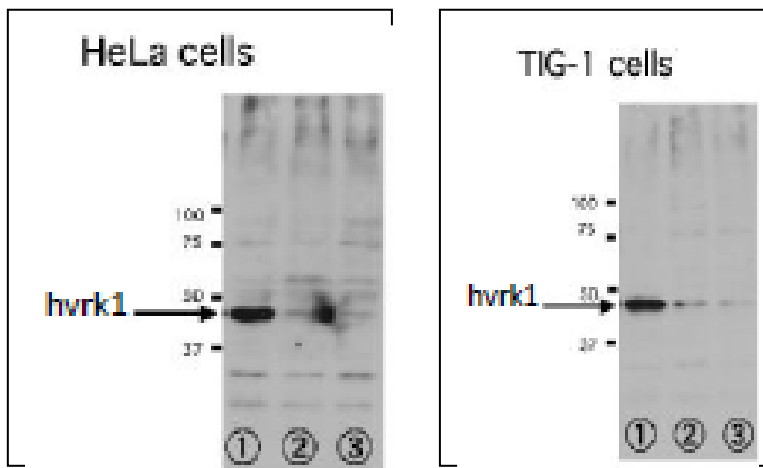


図 2. VRK1 に特異的な RNAi の導入によるヒト細胞での VRK1 発現の抑制。レーン 1; ルシフェラーゼに対する RNAi (対照)。レーン 2 と 3： 夫々 VRK1-1 RNAi と VRK1-2 RNAi を導入した細胞。Lumi-Light Plus (Roche) を化学発光試薬として用いた。抗体希釈； 1/500。 5×10^4 細胞の抽出液を各レーンに使用

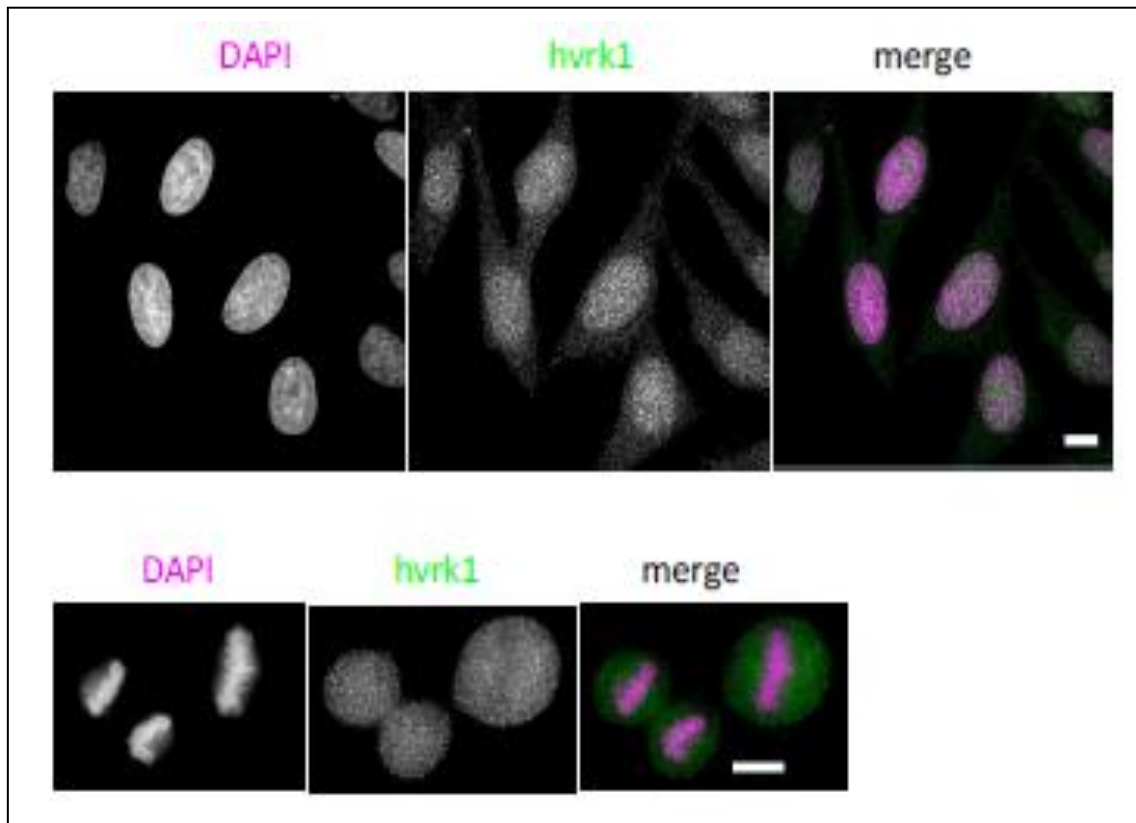


図3. HeLa 細胞中の VRK1 タンパク質の免疫蛍光染色 (パラホルムアルデヒド固定)
上図：間期の細胞をパラホルムアルデヒドで固定し、抗ヒト VRK1 抗体 (1/100 希釈) で染色し (中央)、細胞の DNA は DAPI で染色し (左図)、両方のイメージを重ねあわせた (右図)。

下図；分裂中期の細胞。中期には VRK1 粒子は核内だけに検出される。

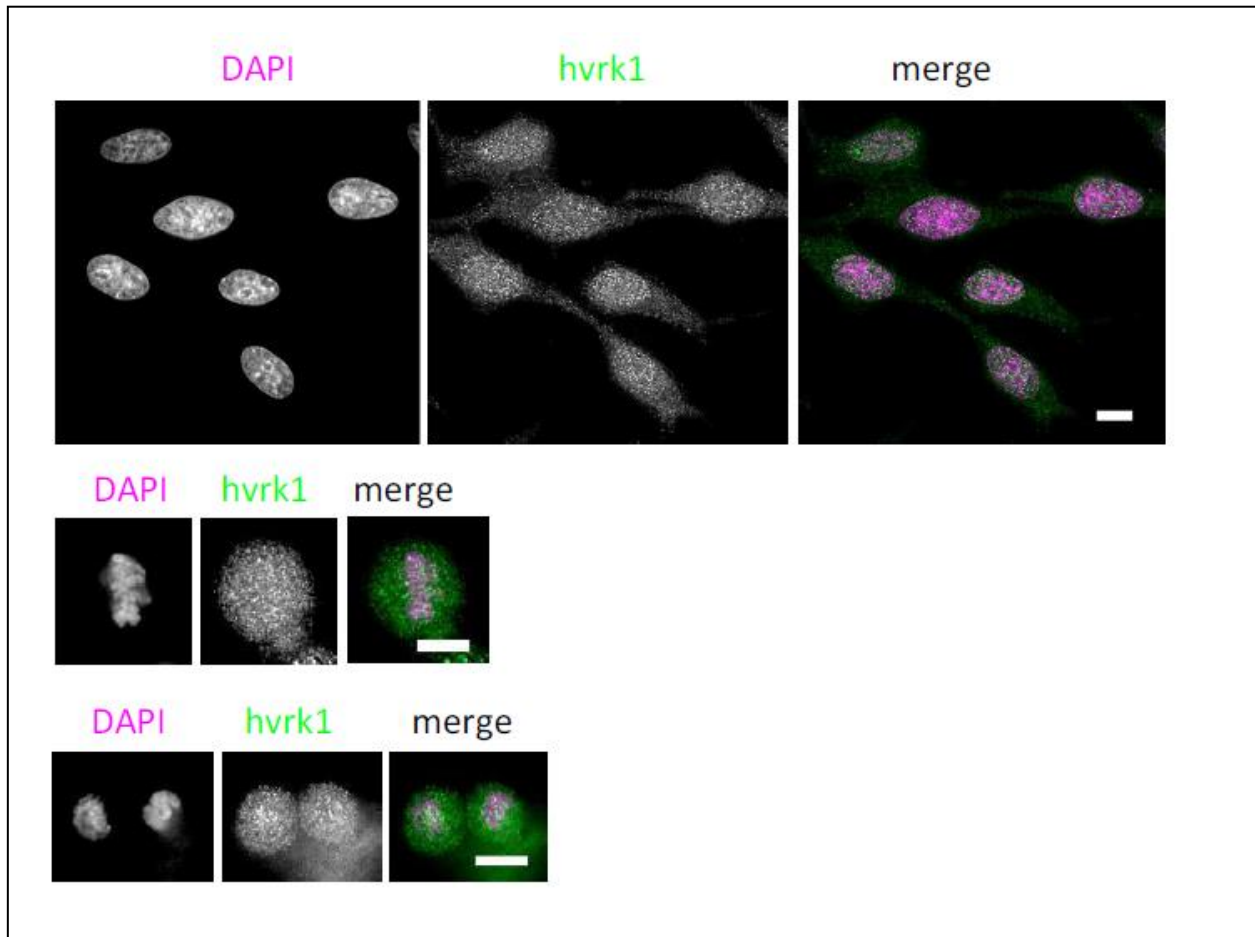


図4. HeLa 細胞中の VRK1 タンパク質の免疫蛍光染色 (メタノール固定)

上図：間期の細胞をメタノールで固定し、抗ヒト VRK1 抗体 (1/100 希釈) で染色し (中央)、細胞の DNA は DAPI で染色し (左図)、両方のイメージを重ねあわせた (右図)。中図、下図；分裂中期の細胞。中期には VRK1 粒子は核内だけに検出される。

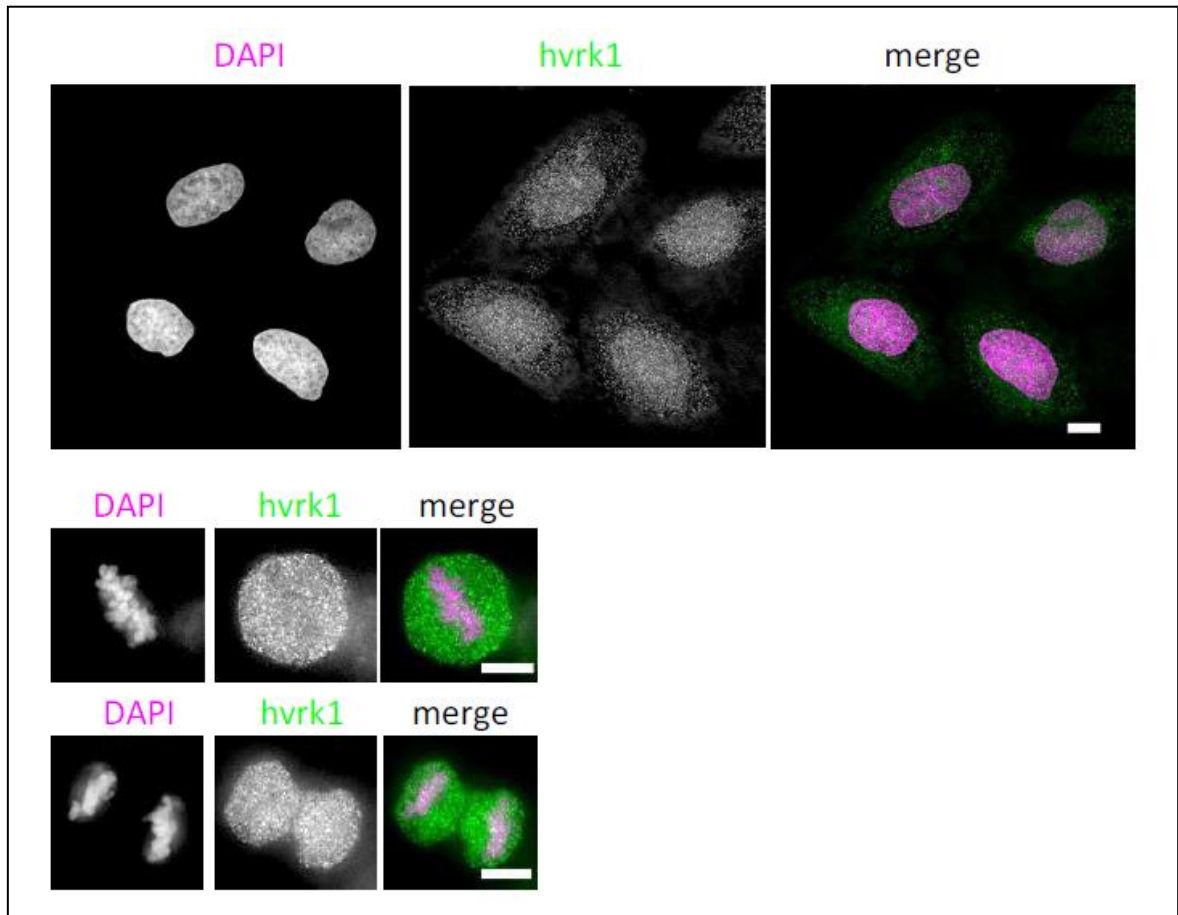


図5. ヒト U-2 OS 細胞中の VRK1 タンパク質の免疫蛍光染色（パラホルムアルデヒド固定）

上図：間期の細胞をメタノールで固定し、抗ヒト VRK1 抗体（1/100 希釈）で染色し（中央）、細胞の DNA は DAPI で染色し（左図）、両方のイメージを重ねあわせた（右図）。

中図、下図；分裂中期の細胞。中期には VRK1 粒子は核内だけに検出される。

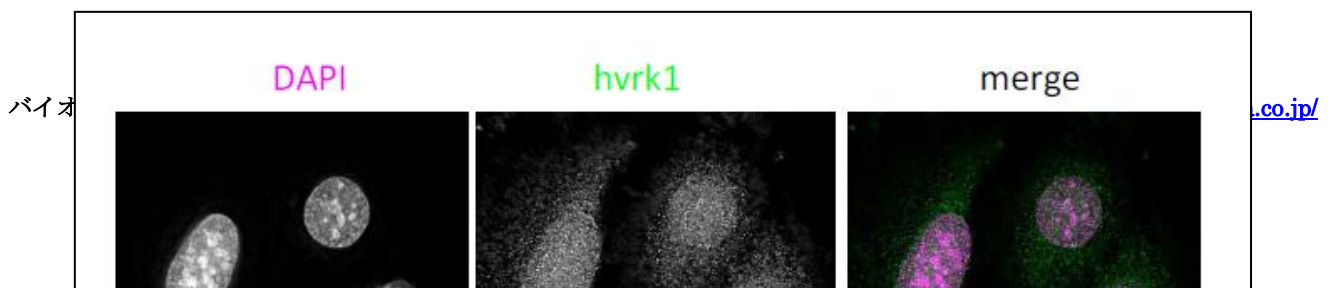


図6. ヒト U-2 OS 細胞中の VRK1 タンパク質の免疫蛍光染色 (メタノール固定)

上図: 間期の細胞をメタノールで固定し、抗ヒト VRK1 抗体 (1/100 希釈) で染色し (中央)、細胞の DNA は DAPI で染色し (左図)、両方のイメージを重ねあわせた (右図)。

中図、下図; 分裂中期の細胞。中期には VRK1 粒子は核内だけに検出される。

全てのデータは未来 ICT 研究所 (神戸) の原口徳子教授及び荒神尚子研究員によって提供された。