

抗 DNA ポリメラーゼ Kappa / Pol K 抗体、マウスモノクローナル(# 13)

70-073 50 μ g

出荷と保管:4°Cで発送し、-20°Cで保管する。-20°C以下で凍結しないこと。

免疫原: C 末端(BioAcademia10-105)の His6-タグを有する組換えヒト DNA ポリメラーゼ Kappa (1-560aa)

特異的反応性:ヒト、マウス、ラットの DNA ポリメラーゼ Kappa

用途

1. ウェスタンブロット法(1 μ g/mL)
2. 免疫沈降(1~5 μ g/mL)
3. ELISA

背景:UmuC/DinB スクレオチジルトランスフェラーゼスーパーファミリーのメンバーである哺乳類 DNA ポリメラーゼ κ は、自然突然変異誘発に関与している(1)。ヒト DNA ポリメラーゼ κ は損傷を受けていない DNA 鎖をコピーし、平均 1 塩基置換および欠失エラー率はそれぞれ 7×10^{-3} および 2×10^{-3} であった。これらの誤り率は、他のほとんどの DNA ポリメラーゼの誤り率(2)と比較すると高い。DNA ポリメラーゼ κ は、ある種の DNA 損傷の変異性バイパスにおいて重要な役割を果たしている(3,4)。DNA ポリメラーゼ κ の発現は、精巣では他の組織よりもはるかに高く、選択的スプライシングによる短い転写産物が主要な形態である(3)。

アイソタイプ: マウス IgG1、カッパ

製品:PBS-中 1.0mg/ml、50%グリセロール、フィルターで滅菌。

純度: IgG、プロテイン A でアフィニティー精製した

データリンク: UniProtKB Q9UBT6 ([Link](#))(POLK_HUMAN)

関連製品:

10-105 ([Link](#)) DNA polymerase kappa (human)

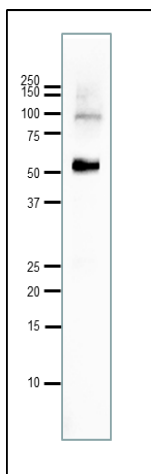


図1 ヒト精巣組織溶解物のウェスタンブロット

10 μ g のヒト精巣組織溶解物(221 HT-401、フナコシ)を SDS-PAGE (10%ゲル)上で泳動した。

抗 DNA ポリメラーゼ κ 抗体を 1 μ g/ml 使用した。

二次抗体(ヤギ抗マウス IgG 抗体、HRP 結合型、ab205719)を 1/5000 希釈で用いた。

上側のバンドは 99kDa のフルサイズの産物に相当し、約 50kDa に相当する主バンドは精巣特異的オルタナティブスプライシングの産物である可能性が高い

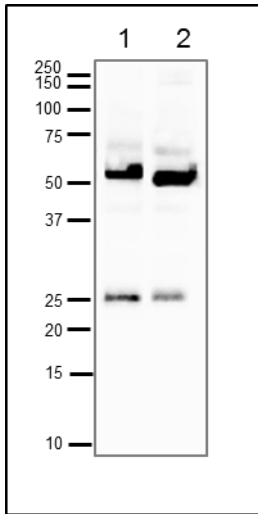


図 2 DNA ポリメラーゼ κ のウエスタンブロット、マウスおよびラットの卵巣

10 μg のマウス (lane 1) 、ラット (lane 2) の卵巣粗抽出液を 10% SDS-PAGE で泳動。

抗 DNA ポリメラーゼ抗体を 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で使用。

二次抗体として HRP コンジュゲート ヤギ抗マウス IgG (ab205719) を 1/5,000 希釈で用いた。

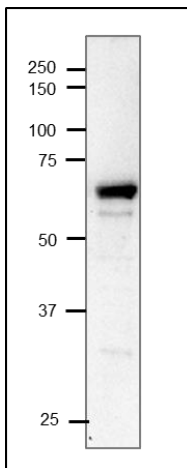


図 3 組換え DNA ポリメラーゼ κ のウエスタンブロット(BioAcademia 10-105)

1 μg の組換えヒト DNA ポリメラーゼ κ (65 kda)を SDS-PAGE (10%ゲル)上で泳動した。

抗 DNA ポリメラーゼ κ 抗体を 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 使用した。

二次抗体(ヤギ抗皮膚 IgG 抗体、HRP 結合型、ab205719)を 1/5000 希釈で用いた。

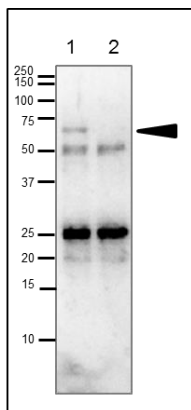


図 4 組換え DNA ポリメラーゼ κ (BioAcademia10-105) の免疫沈降

10 μg の組換え DNA ポリメラーゼ κ を 10 μg の抗 DNA ポリメラーゼ κ 抗体で免疫沈降させ、沈降物を抗 DNA ポリメラーゼ κ 抗体で免疫ブロットした。

レーン 1:組換え DNA ポリメラーゼ κ

レーン 2:モック

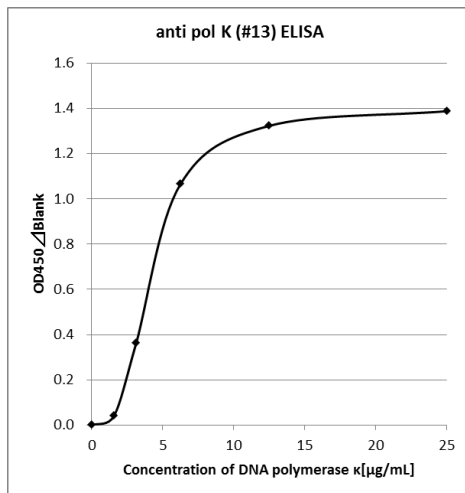


図 5 モノクローナル抗体を用いた間接 ELISA 法によるポリメラーゼ κ タンパク質の滴定

示された量の組換え DNA ポリメラーゼ κ を ELISA プレートのウェル上にコーティングした。1% BSA でブロック後、 $2 \mu\text{g/ml}$ のモノクローナル抗体を各ウェルに添加した。HRP-結合ヤギ抗マウス IgG ($100 \mu\text{l}$, $\times 10,000$ 希薄化)を加えた。基質として TMBZ を用いた。450nm で測定した吸光度(OD)。

有用な参考文献:

1. Ohashi E et al. (2000) Fidelity and processivity of DNA synthesis by DNA polymerase kappa, the product of the human DINB1 gene. *J Biol Chem* 275: 39678–39684 (2000) PMID: 11006276 ([Link](#))
2. Ohashi E et al. (2000) Error-prone bypass of certain DNA lesions by the human DNA polymerase kappa. *Genes Dev* 14: 1589–1594 (2000) PMID:10887153 ([Link](#)).
3. Valasco-Miguel S et al. (2003) Constitutive and regulated expression of the mouse Dinb(PoI κ) gene encoding DNA polymerase kappa. *DNA Repair* 2:91–106. PMID: 12509270 ([Link](#)) (Alternative splicing)
4. Jałoszyński P. et al. (2005) Error-prone and inefficient replication across 8-hydroxyguanine (8-oxoguanine) in human and mouse ras gene fragments by DNA polymerase kappa. *Genes Cells*.10:543–50. PMID: 15938713 ([Link](#))