

抗 CDT2/DTL 抗体, ウサギ抗血清

商品コード	70-115
容量	100 µl
保存	-20 °C 凍結融解を避ける
濃度	N/A
バッファー	0.05%アジ化ナトリウム添加
純度	ウサギ抗血清
抗原	大腸菌で発現して精製した His-tag を付けた Cdt2 タンパク質の C 末 150 アミノ酸を含む組換え体
アイソタイプ	ウサギ IgG
反応性	ヒト、マウス、ラット、ハムスター
特記事項	特異性検証 ：siRNA を用いて、ウェスタンブロットで特異的反応性を検証（図 2） キーワード ：ユビキチン化, タンパク質分解, Cdt1, CDKN1A/p21(CIP1), 細胞周期, DNA 損傷応答, ATR, Phosphorylation, Translesion DNA synthesis
アプリケーション	1.ウェスタンブロット法 (1/200-1/2,000 希釈) 2.免疫沈降 3.免疫蛍光染色 (1/100~1/1,000 希釈) 4.Flow Cytometry
背景	CDT2 (ヒト, 730 aa, 79.5 kDa) は、細胞周期制御、DNA 損傷応答および損傷乗越え型 DNA 合成のために必要な DCX (DDB1-CUL4-X-box) E3 ユビキチンタンパク質リガーゼ複合体の基質特異性アダプターである。DCX (DTL) 複合体体（別名 CRL4 (CDT2) 複合体）は、CDT1 および CDKN1A/p21(CIP1)のポリユビキチン化および後の分解を調節する。DNA 損傷に応じて起こる CDT1 分解は、DNA 複製の適切な細胞周期制御を保證するのに必要である。S 期または UV 照射後の CDKN1A/p21(CIP1)分解は、複製ライセンスを制御するのに必須である。ほとんどの基質は、ポリユビキチン化に PCNA との相互作用を必要とする：基質は PIP ボックスを介して PCNA と相互作用し、PIP-box 中に 'K+4' モチーフを含む基質は DCX (DTL) 複合体をリクルートして分解に至る。損傷を受けていない増殖細胞では、DCX (DTL) 複合体が PCNA の「Lys-164」の mono-ubiquitination を推進し、PCNA-依存性 translesionDNA 合成に関与する。DNA 損傷後、CDT2 は、チェックポイントキナーゼ ATR によって活性化される。
Data Link	UniProt: Q9NZJ0 Human Entrez Gene: 51514 Human
※本製品は研究用です。診断および軍事目的に使用することはできません。	

画像: 70-115 抗 CDT2/DTL 抗体、ウサギ抗血清

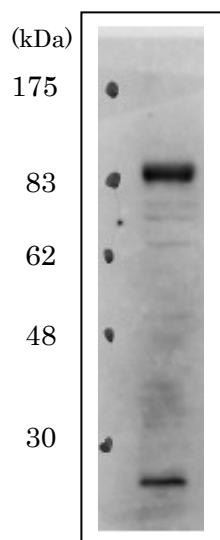


Fig.1. ウェスタンブロット法による HeLa 細胞の全細胞抽出液中の Cdt2 タンパク質の同定。

20 μ g のタンパク質を含む細胞抽出物中の内在性レベルの Cdt2 タンパク質は、1/2,000 の希釈した抗体で検出された。二次抗体は、1/20,000 希釈した HRP 結合ヤギ抗ウサギ IgG 抗体を用いた。

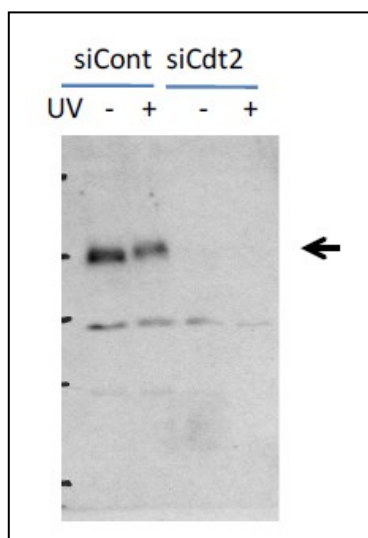


Fig.2. Cdt2 siRNA による Cdt2 タンパク質特異的合成阻害。

siCont は、Cdt2 と無関係なネガティブ対照の siRNA である。

siCdt2 は、Cdt2 特異的 siRNA である。照射試料(UV+)のバンドシフトアップにより示されるように、Cdt2 は、UV 照射後リン酸化される。

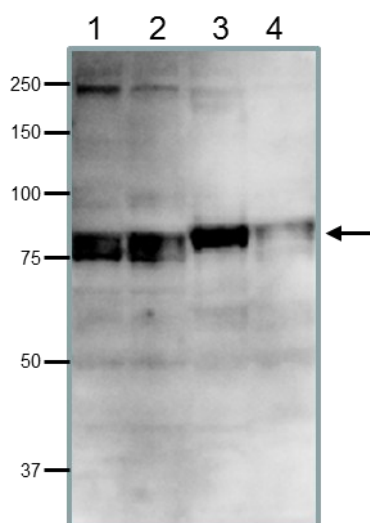


図 3. ヒトとケツシ類の細胞粗抽出液中での Cdt2 のウェスタンブロット。

細胞粗抽出液:40 μ g. 抗 Cdt2 抗体は 1/200 希釈で用いた。二重バンドは Cdt2 タンパク質がリン酸化したためである。

1. HeLa 細胞 (ヒト)
2. MCF7 細胞 (ヒト)
3. NIH3T3 細胞 (マウス)
4. CHO 細胞 (ハムスター)

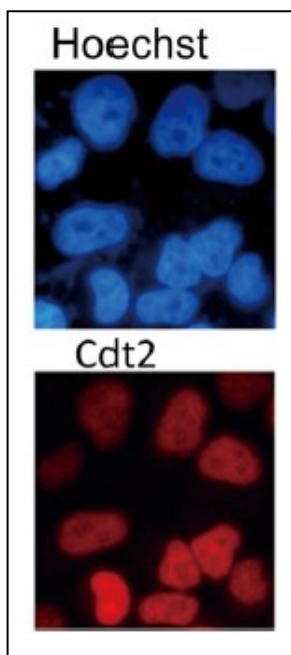


図. 4. 増殖中の HeLa 細胞中の Cdt2 タンパク質の免疫蛍光染色。

非同調で増殖中の HeLa 細胞の DNA を Hoechst 33258 で、Cdt2 タンパク質を本抗体で染色した。細胞は、10 分間の 4%パラホルムアルデヒドで固定し、リン酸緩衝食水(PBS-)中に 0.25%(v/v)の Triton X-100 を含む溶液で透過処理し、一次抗体と反応させた。Alexa-592 コンジュゲートしたヤギ抗ウサギ IgG を二次抗体として使用した。Cdt2 タンパク質は、すべての細胞ステージで核に局在する。

文献: この抗体は論文 1 に記載され、以下の全論文で使用されている。

1. Nishitani H. et al. (2008) CDK Inhibitor p21 Is Degraded by a Proliferating Cell Nuclear Antigen-coupled Cul4-DDB1Cdt2 Pathway during S Phase and after UV Irradiation. J.Biol.Chem. 283: 29045-29052. WB [Link](#)
2. Ishii T. et al. (2010) [Proliferating cell nuclear antigen-dependent rapid recruitment of Cdt1 and CRL4Cdt2 at DNA-damaged sites after UV irradiation in HeLa cells.](#) J Biol Chem. 285:41993-42000. WB, IF, FACS [Link](#)
3. Roukos V. et al. (2011) Dynamic recruitment of licensing factor Cdt1 to sites of DNA damage. J. Cell Science 124: 422-434. IF [Link](#)
4. Sakaguchi H. et al. (2012) Checkpoint Kinase ATR Phosphorylates Cdt2, a Substrate Receptor of CRL4 Ubiquitin Ligase, and Promotes the Degradation of Cdt1 following UV Irradiation. PLoS ONE 7(9): e46480. WB [Link](#)
5. Shiomi Y. et al. (2012) Two Different Replication Factor C Proteins, Ctf18 and RFC1, Separately Control PCNA-CRL4Cdt2-Mediated Cdt1 Proteolysis during S Phase and following UV Irradiation. Mol. Cell. Biol. 32: 2279-2288. WB, IF [Link](#)