

## 大腸菌 DNA フトリアーゼ (Cyclobutane Pyrimidine Dimer Photolyase)

01-013 20  $\mu$ g

出荷・保管:4°Cまたは-20°Cで発送し、-20°Cで保管する。凍結融解サイクルを繰り返さない

製品:Sancar A, Smith FW, Sancar GB に記載されている精製組換え完全サイズ E. coli Photolyase (Deoxyribodipyrimidine photo-lyase)大腸菌 DNA フトリアーゼ。Sancar A, Smith FW, Sancar GB. Purification of Escherichia coli DNA photolyase [J Biol Chem](#). 1984 May 10;259(9):6028-32. PMID: [6325459](#)

### 用途:

1. SDS-PAGE
2. ウェスタンブロット法
3. 免疫沈降法
4. ELISA 法
5. 機能試験

状態: 0.4 mg/ml in 50 mM KCl, 25 mM Tris-HCl, pH 7.4, 0.5 mM EDTA, 5 mM  $\beta$ -mercaptoethanol, 50% Glycerol.

背景:紫外線誘発 DNA 損傷に関与する。シクロブチルピリミジンジマー(cis-syn 構造)の光依存モノマー化(300~600nm)による修復を触媒する。シクリオブチルピリミジンジマーは、同じ DNA スtrand 上の隣接する塩基の間に、紫外線に曝されることによって形成される。可視光が吸収されると、電子は Trp-307 から Trp-360 を経て Trp 383 へ、そしてそこから FADH へと移動し、完全に還元された触媒性 FADH<sup>-</sup>が生じる。472 aa. 質量: 53,667Da

データリンク: UniProtKB: [P00914](#) (PHR\_ECOLI)

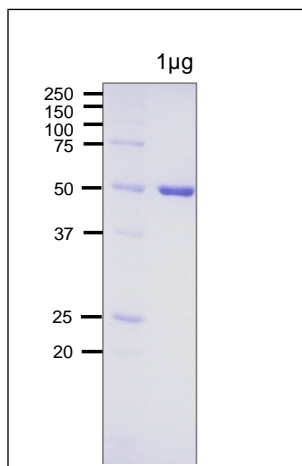


図 1 大腸菌 Photolyase の SDS-PAGE 分析

Photolyase 1  $\mu$ g を使い、12% SDS-PAEG で分析した。

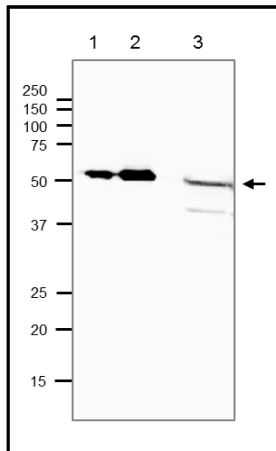


図2 大腸菌 Photolyase のウエスタンブロット

サンプリング

1. 精製フォトリアーゼ 8.4 ng
2. 精製フォトリアーゼ 42 ng
3. 大腸菌粗溶解液

SDS-PAGE 12.5%ゲル

ブロッティング: 15 v、一晚、5% 脱脂乳によるブロッキング

1/1,000 希釈で抗 Photolyase 抗体を使用。

二次抗体:ヤギ抗ウサギ IgG (H & L) (ab97051)を 1/10,000 で使用。

大腸菌細胞当たり 10~20 分子のフォトリアーゼしかないことに注意。

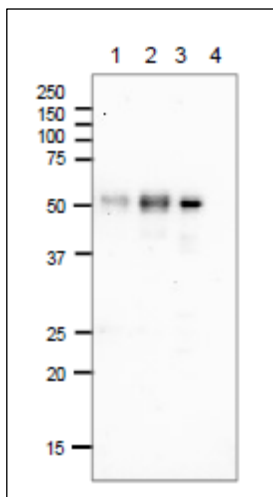


図3 大腸菌 Photolyase の免疫沈降

Dynabeads Magnetic system (Thermo Fisher)を用いて免疫沈降を行った。

1. 大腸菌 AB1157 細胞溶解液(300 μg)、抗体 2 μg
2. 大腸菌 AB1157 細胞溶解液(300 μg)、抗体 10 μg
3. 陽性対照:精製した大腸菌フォトリアーゼ、4.2 μg、抗体 10 μg
4. 陰性対照:サンプルなし、抗体 10 μg

ウエスタンブロット:抗 Photolyase 抗体を 1/1,000 希釈で使用し二次抗体として、HRP 結合ヤギ抗ウサギ IgG (VeriBlot for IP (ab 131366))を 1/1,000 希釈で使用した。

関連製品: 61-013 抗 DNA Photolyase (E. coli) 抗体