

ナカライテスク -Biotechnology Seminar-

開催日: 2011年11月21日(月曜日) 15:30~17:00
会場: 5123 講義室

タンパク質研究 基礎セミナー(15:30~16:15)

演題 1: タンパク質の発現から検出まで—手法と原理—

演題概要:

ウェスタンブロッティングは複数のタンパク質を含むサンプルを電気泳動により分離した後、ニトロセルロースメンブレンやPVDFメンブレンに転写し、メンブレンに吸着したタンパク質を、特異的な抗体を使って免疫反応させることにより、目的のタンパク質がサンプルに含まれているかどうかを確認する方法です。

ブロッティングの手法はEdwin Mellor Southern が考案し、その名前に由来するDNA 検出法のサザンブロッティング(南)に始まり、その後、開発されたRNA 検出法のノーザンブロッティング(北)の流れから、タンパク質検出法である本手法は、ウェスタン(西)ブロッティングと名づけられています。

各操作段階でさまざまな手法が存在し、ベストな結果を得るためには適切な方法や試薬の選択、注意点などがあります。今回のセミナーでは、『タンパク質発現』『電気泳動』『ウェスタンブロッティング』の実験の手法の流れに従い、有効性が高い製品の説明と、プロトコールだけではなく、使用例、注意点、トラブルシューティングなどを合わせてご紹介します。

<使用例>

Chemi-Lumi One L

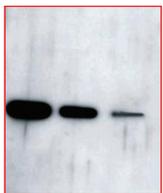
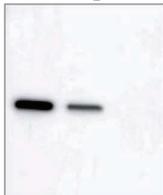
Blocking One



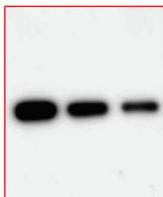
露光時間の延長

Chemi-Lumi One Super

Blocking One

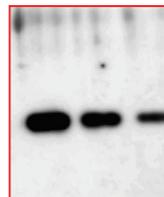
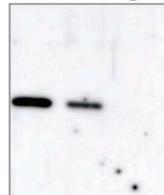


HIKARIで希釈



他社新製品

他社 Blocking Reagent



他社従来品

スキムミルク



Chemi-Lumi Superと
Blocking One
の組み合わせでは

低バックグラウンドで
高感度検出が可能

タンパク質研究 応用セミナー(16:20~17:00)

演題 2 : 内在性タンパク質の二分子間相互作用局在解析に！

~Olink Bioscience 社 Duolink *in situ* PLA~

演題概要：

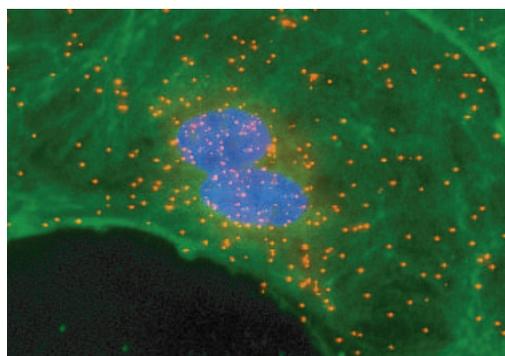
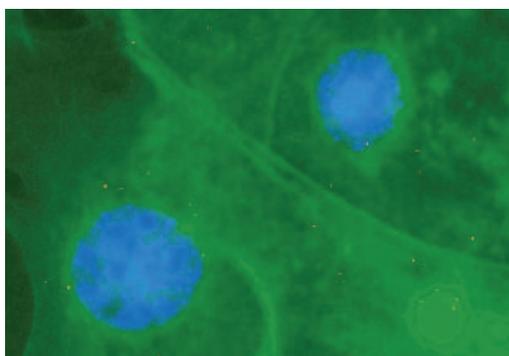
Olink 社の Duolink™ システムは、*In situ* Proximity Ligation Assay (*in situ* PLA) 法に基づいた、免疫組織染色のシステムです。

in situ PLA 法はターゲットを認識する 2 種類の一次抗体とそれぞれに対するオリゴヌクレオチド標識された二次抗体、蛍光または酵素標識されたプローブを使用した検出法で、微量なターゲットを特異的に検出する独自の増感技術です。この原理により高い特異性と感度を実現しており、ターゲット 1 分子レベルでの検出、可視化、定量が可能となります。

本システムの検出に特殊な装置は必要なく、通常の蛍光顕微鏡(蛍光標識プローブ)や光学顕微鏡(酵素標識プローブ)が利用できます。本システムを使用すると、融合タンパク質の発現や、タンパクの過剰発現をさせることなく固定された組織や細胞内において内在性タンパク質の修飾や相互作用を解析することが可能となります。また、本システムは多検体を用いた HTS の有効なツールともなります。

今回は、TGF- β 刺激による SMAD の複合体形成に関するデータ、VEGF-R2 と PDGF-RB の相互作用に関する確認試験、頭部および頸部がんにおける EGFR のリン酸化レベルの相関についてご紹介させていただきます。また、ホモダイマータンパク質の検出についてもいくつかの結果を交えてご紹介させていただきます。

◆SMAD タンパク質間の相互作用解析



お問合せ先：

応用生物学部 応用生物化学科

講師 中川 大

内線：5620

e-Mail：hnakagaw@isc.chubu.ac.jp

ナカライテスク株式会社 マーケティング部

TEL：075-211-2746 FAX：075-211-2710

e-Mail：info-tech@nacalai.co.jp