

## 抗 Nup98 抗体, ラットモノクローン(2H10)

70-310 100μg

Nucleoporin 98 (Nup98) は核膜に埋め込まれた大きな構造体である核膜孔(NPC)の構成成分の一つであり、核膜孔の両側に存在する。このタンパク質は Gly-Leu-Phe-Gly の繰り返し配列を持っていて、タンパク質の核移行及び RNA の核外への移行に必須である(1)。 Nup98 遺伝子は白血病患者の染色体上で転移していて種々の遺伝子と融合している(2)。このハイブリドーマは大阪市立大学の立花太郎博士の研究室で作成された(3)。

## 用途:

1)ウエスターンブロッテイング 2)免疫染色 3)ELISA 4) ドットブロッテイング

性質: 本抗体を細胞質に注入すると核膜孔に蓄積し、内在性の Ran タンパク質の核局在を阻害する。

抗原: 組換え体 Nup98 タンパク質 (アミノ酸 1-466)

**Isotype:** Rat IgG2c ( $\kappa$ )

**反応性:** ヒト、マウス、ラット、分裂酵母の Nup98 タンパク質及び出芽酵母の Nup98 関連ヌクレオポリン, Nup116, Nup100, Nup145N, Nup57, Nup49。テトラヒメナとは反応しない。他の生物種では調べていない。

性状: 精製 IgG (1 mg/ml) in PBS(-), 50% glycerol, filter-sterilized. Azide- and carrier-free

保存: 輸 送: $4^{\circ}$  または  $-20^{\circ}$ . 到着後、遠心して抗体液を落としてから $-20^{\circ}$ で保存。

データリンク: UniProtKB/TrEMBL Q9HDC8 (Q9HDC8\_HUMAN)

文献: 本抗体は文献 1,2 に記載され,使用されている。

- Fukuhara T et al"Specific monoclonal antibody against the nuclear pore complex protein, nup98."
  Hybridoma 24: 244-247 (2005) PMID: 16225424 WB,IF
- 2. Iwamoto M. et al. (2013) Monoclonal antibodies recognize gly-leu-phe-gly repeat of nucleoporin nup98 of tetrahymena, yeasts, and humans. Monoclon Antib Immunodiagn Immunother. 32: 81-90 PubMed ID: 23607342 WB, IF

97**→** 55**→**  図1 Nup98 タンパク質の 2H10 抗体を用いたウエスタンブロッティングによる検出。

サンプルは HeLa 細胞の核膜画分。 抗体は 2,000 倍希釈で用いた。

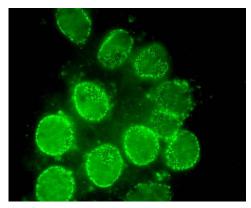
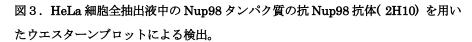


図 2 マウス神経細胞の 2H10 抗体を用いた免疫抗 体染色。

Nup98 タンパク質は粒子状にみえる。





一次抗体は 2,500 倍希釈で使用した。二次抗体は HRP コンジュゲートした抗ラット IgG 抗体を 0.4 ug/ml の濃度で用いた。



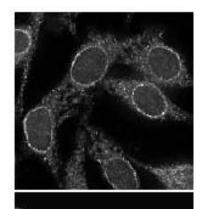
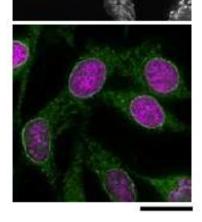


図4. 抗 Nup98 抗体(2H10) を用いた間接免疫蛍光染色法による HeLa 細胞中の Nup98 タンパク質の検出。

細胞はメタノールで固定し、一次抗体は 0.5 ug/ml で使用し、二次 抗体は Alexa488 ラベルした抗ラット IgG を 0.5 ug/ml の濃度で使用した。上段(mAb) は抗体による免疫蛍光染色、DNA は DAPI で染色し、下段のカラー像は抗体染色(緑色)と DAPI 染色(マジェンダ)を重ねた結果である。

DAPI



mAb DAPI



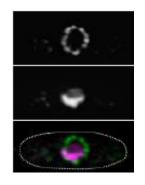
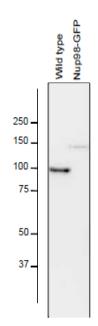


図 5. 抗 Nup98 抗体(2H10) を用いた間接免疫蛍光染色法による分裂酵母細胞中の Nup98 タンパク質の検出。

細胞はメタノールで固定し、一次抗体は 0.5 ug/ml で使用し、二次抗体は Alexa488 ラベルした抗ラット IgG を 0.5 ug/ml の濃度で使用した。上段 (mAb) は抗体による免疫蛍光染色、DNA は DAPI で染色し、下段のカラー像は抗体染色(緑色)と DAPI 染色(マジェンダ)を重ねた結果である。点線で囲ってあるのは細胞の外周である。酵母細胞は 4% formaldehyde で固定し、0.6 mg/ml の Zymolyase 100T で処理し、1% Triton X-100 で透過処理した。一次抗体は 10 ug/ml の濃度を用いた。



## 図 6. 分裂酵母細胞粗抽出液中の Nup98 タンパク質の抗 Nup98 抗体(2H10) を用いたウエスターンブロットによる検出。

一次抗体は  $1\,\mathrm{ug/ml}$  で使用した。二次抗体は  $\mathrm{HRP}$  コンジュゲートした抗ラット  $\mathrm{IgG}$  抗体を  $0.4\,\mathrm{ug/ml}$  の濃度で用いた。左は内在性の  $\mathrm{Nup98}$ , 右は染色体上の  $\mathrm{Nup98}$  遺伝子を  $\mathrm{Nup98}$ ・遺伝子で置き換えた酵母からのサンプルである。



図7. 抗 Nup98 抗体(2H10) を用いた間接免疫蛍光染色法による出芽酵母細胞中の Nup98 タンパク質の検出。

細胞はメタノールで固定し、一次抗体は 10 ug/ml で使用し、二次抗体は Alexa 488 ラベルした抗ラット IgG を 0.5 ug/ml の濃度で使用した。上段(mAb) は抗体による免疫 蛍光染色、DNA は DAPI で染色し(中断)、下段のカラー像は抗体染色(緑色)と DAPI 染色(マジェンダ)を重ねた結果である。点線で囲ってあるのは細胞の外周である。 酵母細胞は 4% formaldehyde で固定し、0.6 mg/ml の  $Zymolyase\ 100T$  で処理し、1%  $Triton\ X-100$  で透過処理した。一次抗体は 10 ug/ml の濃度を用いた。



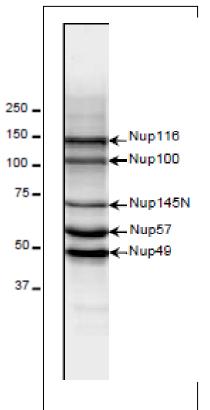


図8. 出芽酵母細胞粗抽出液中の Nup98 タンパク質の 抗 Nup98 抗体(2H10) を用いたウエスターンブロット による検出。

一次抗体は 1 ug/ml で使用した。二次抗体は HRP コンジュゲートした抗ラット IgG 抗体を 0.4 ug/ml の濃度で用いた。5 本の同定されたタンパク質バンドは GFLG 配列を複数含む 5 種類の出芽酵母のヌクレオポリンに分子量に対応する。