

ERAI ER Stress Detector HD

小胞体ストレス検出試薬 HD

細胞レベルのストレスには、低酸素ストレスなどの組織内要因で生じるストレスと、小胞体ストレスや酸化ストレスなど細胞内のストレスがあり、様々な疾患に関与することが報告されています。細胞ストレスのうち、タンパク質の製造・品質管理工場である小胞体で、不具合により生じた変性タンパク質(不良品タンパク質)が蓄積することで引き起こされるストレスが、小胞体ストレスです。過度の小胞体ストレスは細胞死を誘導し、これが、アルツハイマーなどの神経変性疾患、メタボリックシンドローム、がんなどの要因になると考えられています。

ERAI ER Stress Detector HD には、小胞体ストレス因子である XBP1 蛋白質の発現制御システムが利用されています。XBP1 mRNA はイントロンを含む分子として、いったん合成され、小胞体ストレスがない時には、不活性型 XBP1 として不完全長のタンパク質が翻訳されます。一方、小胞体ストレス条件下では、イントロンが取り除かれ、完全長の活性型 XBP1 が翻訳されます。ERAI ER Stress Detector HD は、XBP1 cDNA のイントロンを2回繰り返した直下に、ルシフェラーゼを連結したレポーター遺伝子です。この ERAI ER Stress Detector HD を導入した細胞では、小胞体ストレスが入ることによりイントロン配列が除去され、XBP1 のN末領域とルシフェラーゼの融合タンパク質が翻訳されます。

ERAI ER Stress Detector HD は、小胞体ストレスを高い S/N 比で検出する場合にご使用可能です。一方、ルシフェラーゼの活性強度を重視される場合は、**ERAI ER Stress Detector** をご利用ください。

個体レベルでの ER ストレスの観察には、ERAI ER Stress Detector HD を導入した KI 型 ERAI-Luc マウスのご利用が可能です。

内容	plasmid DNA
容量	5 µg DNA/vial, 20 µL TE
保管方法	-20°C以下
※エンドトキシンプリーでの処理はしていません。	

製造元

BSRC
BioSafety Research Center

株式会社安評センター by トランスジェニックグループ
〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 7-1-14 神戸研究所
TEL: 078-306-0295 FAX: 078-306-0296
URL: <https://www.anpyo.co.jp> Genomics_Business@anpyo.co.jp

【実験例】

ERAI ER Stress Detector HD を培養細胞に導入し、ツニカマイシン処理による ER ストレスを付加する。

- 1) トランスフェクション前日に、細胞を 35mm 培養プレートに播種する（接着細胞の場合、 $1\text{-}3 \times 10^5$ 細胞程度が目安）。一晚の培養で、50~80%コンフルエントになるように調節する。
- 2) トランスフェクションにより、1) で用意した培養細胞に、ERAI ER Stress Detector HD を導入する。トランスフェクション法は、リン酸カルシウム共沈殿法や一般的に販売されているトランスフェクション試薬を用いた方法で行うことができる。詳細は、これらの方法とトランスフェクション試薬のマニュアルに準じる。
- 3) 約 24~48 時間の培養後、ルシフェラーゼアッセイのために細胞を回収する 6 時間前に、 $5 \mu\text{g/ml}$ ツニカマイシンを含む新しい培地と交換する。ER ストレス誘導に必要なツニカマイシンの濃度は、細胞種により異なるので、注意が必要。
- 4) プロメガ社のアッセイキットを用いてルシフェラーゼ活性を測定する。細胞の回収とライゼートの作製方法は、キットのマニュアルに従う。

【参考文献】

Hosoda A, Tokuda M, Akai R, Kohno K, Iwawaki T.

Positive contribution of ERdj5/JPDI to endoplasmic reticulum protein quality control in the salivary gland. *Biochem J.* 425, 117-125 (2010).

【ライセンス条項】

- 本製品は、ご購入者の自施設における研究目的のみにご使用いただけます。
- 本製品、および、その派生物の第三者への譲渡・配布・再販を禁止いたします。
- 本製品のレポーター配列について、いかなる改変もできない。
- 本試薬、改変した本製品を導入した動物個体の作製はできません。
- 本製品のご購入の際には、別紙、ライセンス確認同意書のご提出をお願いしております。

製造元

BSRC
BioSafety Research Center

株式会社安評センター by トランスジェニックグループ
〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 7-1-14 神戸研究所
TEL: 078-306-0295 FAX: 078-306-0296
URL: <https://www.anpyo.co.jp> Genomics_Business@anpyo.co.jp