



Beacle, Inc.

研究用以外には使用しないで下さい

# Bionanocapsule-ZZ

製品番号 BCL-DC-002

Bionanocapsule-ZZ (BNC-ZZ) はバイオナノカプセル (BNC、B 型肝炎ウイルス表面抗原を発現させた中空ナノ粒子) の一種であり、結合させたい抗体と混合するだけで簡単に結合し、1) 細胞表面にあるレセプターなどに対する抗体を結合させることにより抗体依存的に細胞を認識し、封入した物質を細胞内に導入することができ、また 2) 抗原抗体複合体の検出ツールとして利用可能です。

オリジナルの BNC (BNC-L) は脂質二重膜上に B 型肝炎ウイルスの L タンパク質が発現した形状をし、それ自身内包した物質を細胞内に導入する能力を有しています。BNC-ZZ はこの L タンパク質の Pre-S1 領域の最外側部を抗体の Fc 領域と結合する zz-tag に改変しています。そのため、BNC-ZZ も抗体の認識部位に影響を与えることなく、抗体と結合することができます。

BNC-ZZ は *in vitro* で使用する抗体に依存した DNA の細胞選択的な導入や、標識 BNC-ZZ を用いた抗原抗体複合体の多重検出など、アイデア次第で色々な研究に応用が可能です。

- 発現株 : 遺伝子組み換え Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)
- 状態 : 凍結乾燥 (白色)
- 構造 : 脂質二重膜上に抗原タンパク質が発現したナノサイズの粒子です。その平均粒子径は動的散乱法を用いた測定では 40~50 nm (電子顕微鏡による測定では約 20 nm) です。
- 容量 : 100 µg (溶解方法: 凍結乾燥タンパク質 100 µg あたり 500 µL の滅菌水を加えることにより、0.2 mg/mL の濃度になり、そのバッファー組成は 1% sucrose を含む HEPES Buffer (pH7.2-7.4、10 mM HEPES、100mM NaCl) 溶液となります。)
- 純度 : 95%以上 (SDS-PAGE 参照)
- 保存 : -20°C (24 ヶ月以上安定)
- 用途 : 1. DNA などの細胞選択的導入  
2. 抗原抗体複合体検出用プローブ。ウエスタン・ブロッティングや ELISA 等、種々のシステムにおける二次抗体の代替。
- 参考文献 : 1. J Control Release, 2007, 122(2):159-64  
2. J Biochem, 2008, 144(6):701-7

関連商品

Easy-WESTERN (BCL-EZQ01~BCL-EZ-04、BCL-EZS-01~BCL-EZ-04)

## 1. 構造

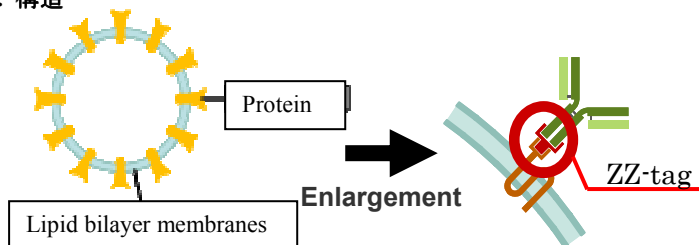


Fig 1. Structure of BNC-ZZ

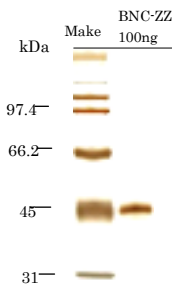


Fig. 2 SDS-PAGE with silver stain

## 2. 抗体特異的な DNA の細胞導入

方法 : pDNA をカチオニックリポソームと混合し、DNA-リポソーム複合体を調製します。DNA-リポソーム複合体に BNC-ZZ を混合し、DNA-リポソーム-BNC-ZZ 複合体を調製します。この複合体に抗 EGFR 抗体 (マウスモノクローナル) を混合することにより結合させます。この複合体を Gli36 (グリオーマ細胞、細胞表面に豊富に EGF レセプターが存在する) に適用し、適用後 72 時間に GFP の発現を観察します。

結果 : 抗 EGFR 抗体を結合させた複合体を適用した細胞では GFP の発現が認められましたが、抗体を結合していない複合体では発現は認められませんでした (下写真)。

BNC-ZZ-リポソーム複合体 + 抗 EGFR 抗体      BNC-ZZ-リポソーム複合体 - 抗 EGFR 抗体

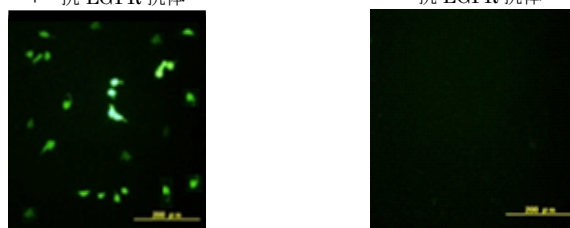


Fig 3 BNC-ZZを用いたGli36細胞への抗体特異的なDNA (GFP) の導入

注：抗体特異的な導入は抗 NGFR 抗体を用いた PC-12 細胞、抗 FGFR 抗体を用いた MDA-MB431 細胞、抗 EGFR 抗体を用いた A431 細胞などで成功しております。BNC-ZZ を用いた抗体特異的な導入を成功させるためには、リポソームや抗体の種類のほか、BNC-ZZ、リポソーム及び抗体の適正な混合比率が重要です。そのため、より良い結果を得るために、これらの要因を最適化するための予備検討を実施することを強く推奨します。

### 3. 蛍光標識 BNC-ZZ を用いたタンパク質の同時多重検出

方法：SDS-PAGE を用いて 4 つのタンパク質を分離し、転写膜に転写します。波長の異なる 4 つの Cy dye でそれぞれ標識した BNC-ZZ に各タンパク質に対応した抗体を一つ結合させることにより、各タンパク質を認識する蛍光標識 BNC-ZZ を調製します。タンパク質を転写した膜を 4 つのタイプの BNC-ZZ がすべて入っているバッファーの中でインキュベートします。その後、蛍光検出装置を用いて各 Cy dye に対応した波長により各蛍光を検出し、写真上で融合します。

結果：4 つのタンパク質 (Vimentin, GST, Tubulin, Actin) を二次抗体を用いずに同時に免疫染色することが出来ました。このシステムでは同一種由来の抗体 (マウス IgG1 のような) を用いて同時に多種のタンパク質を検出することが出来るという、大きな利点を持っています。

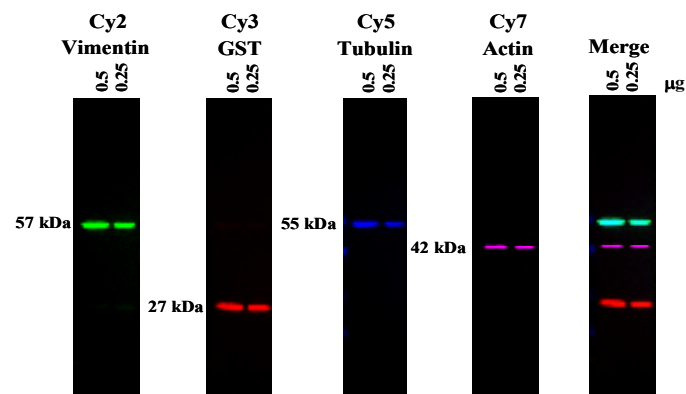


Fig. 4 BNC-ZZを用いた同時多重カラーウエスタン・ブロッティング

注：御希望により、この検出キットをご用意いたします。キットは BNC-ZZ (蛍光標識済み、或いは標識試薬付き)、ブロッキング試薬及びプロトコールで構成されます。

株式会社ビークル

E-mail: [technical-support@beacle.com](mailto:technical-support@beacle.com)

HP: <http://www.beacle.com>