

## 抗 Necdin 抗体, ウサギポリクローナル (NC243)、ChIP グレード、KO-Validated

74-100 100 ug

反応特異性検定: KO-マウスで WB (図 2) と IHC-F (図 5) 用途の特異性検定済

保存: 4°C で輸送、-20°C で保存 (凍結はよくないので、-20°C 以下で保存しない)

反応性: マウス、ラット、ヒト、ニワトリ

抗原: リコンビナント GST-融合マウス *necdin* (アミノ酸 No. 83-325)

用途:

1. ウェスタンブロッティング WB (1/1,000~1/3,000)
2. 免疫組織化学 (1/500~1/1,000 倍希釈)
3. 免疫蛍光染色 IF/IC (1/500)
4. 免疫沈降 IP (1/100)
5. クロマチン免疫沈降 ChIP (1/100)
6. Immuno-affinity assay (抗体コンジュゲートカラムで *necdin* と結合するタンパク質を同定)

純度: ウサギ 抗血清からプロテイン A カラムで IgG をアフィニティー精製

性状: 2 mg/ml in PBS, 50% glycerol. フィルター滅菌. Azide and carrier 無添加

背景: **Necdin** (neurally differentiated embryonal carcinoma-derived protein) はマウス胚性がん細胞を神経分化させた際に発現する遺伝子産物として発見された (文献 1)。マウスとヒトの **necdin** はそれぞれ 325 個と 321 個のアミノ酸残基から成る。**Necdin** はニューロンや筋細胞など分裂終了細胞に主に発現しており、増殖抑制因子と考えられる。またゲノム・インプリンティングに関連した脳発達疾患であるプラダー・ウィリー症候群で見られる脳神経系の異常は **necdin** 遺伝子の欠損が原因ではないかと考えられている。**necdin** はまた転写因子の E2F1 や p53 に結合し、また細胞内カルシウム・ホメオスタシスに寄与しているカルシウム結合タンパク質 NEFA や nucleobindin とともに結合する。これらの事実より、**necdin** は細胞の増殖、分化、死に関連する多数のタンパク質の相互作用ネットワークの中核になるタンパク質と考えられる。

マウス **necdin** に対するウサギ抗体 (NC243 と命名) は *necdin* の発見者である吉川和明教授の研究室で作成され、高品質で世界中の研究室で使用されている (文献 1-19)

データリンク: Swiss-Prot [P25233](#) (マウス), [Q99608](#) (ヒト)

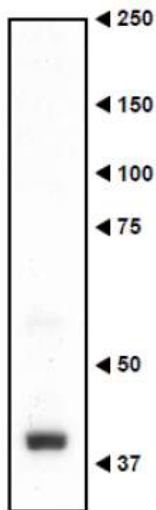


図1. マウス胚の粗抽出液中での Necdin タンパク質の本抗体を用いたウエスタンブロットによる検出。

E16.6 のマウス胚の脳皮質の抽出液 20  $\mu$ g を使った。抗 Necdin 抗体は 1/3,000 希釈で使用した。Necdin の分子量は 37 kD である。

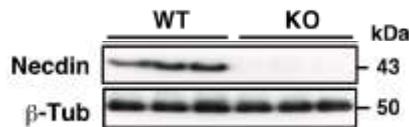


図2. 抗 *necdin* 抗体 (NC243) の KO マウスを用いた WB での反応特異性の検定

Proteins in forebrain lysates from wild-type and *necdin* knock-out mouse embryos at E14.5 were analyzed by Western blotting. Each lane represents the extract from one littermate. Protein levels were normalized to  $\beta$ -tubulin.

(Image from Minamido R et al. *PLoS One*. **9** (1) PMID: [24392139](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24392139/).)

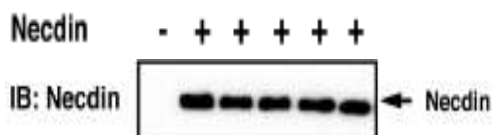


Fig.3 Necdin の免疫沈降

HEK293A cells were transfected with expression vectors for *necdin* (+). Cell lysates were immunoprecipitated and immunoblotted with anti-*necdin* antibody. HEK293A cell lysate (-) is a negative control.

(Image from Minamido R et al. *PLoS One*. **9** (1) PMID: [24392139](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24392139/).)

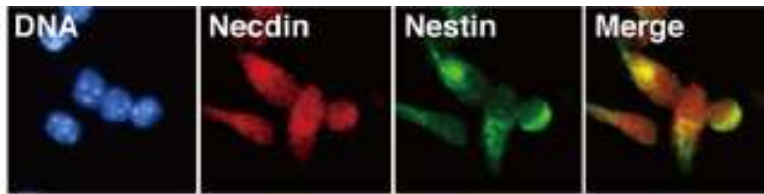


図 4.Necdin の免疫蛍光染色.

Expression of necdin, and nestin in primary neural precursor cells (NPCs) from mouse neocortex. Primary NPCs were prepared from the neocortex at E14.5 and subjected to double-immunostaining for necdin and nestin. DNA was stained with Hoechst 33342. Necdin was immunostained with anti-necdin antibody (NC243) and Nestin with anti-nestin antibody (ST1; BioAcademia 73-105)

(Images from Minamido R et al. *PLoS One*. **9** (1) PMID: [24392139](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24392139/).)

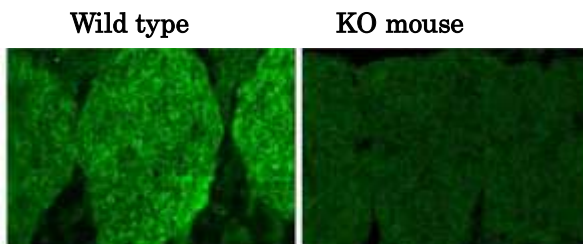


図 5. Necdin の免疫組織化学染色：抗 Necdin 抗体 NC243 の KO-マウスを用いた反応特異性の検定

Cryosections were prepared from wild-type (WT) and necdin-null (KO) mice at E14.5 and immunostained for necdin. Antibody was used at 1/500 dilution



図 6. マウス前脳における necdin の免疫組織化学染色

E13.5 forebrain cryosections were immunostained for necdin.

CX, Cortex; LV, lateral ventricle; LGE, lateral ganglionic eminence; SP, septum. The antibody was used at 1/500 dilution

文献: 本抗体は文献1に記載され、文献1-19に使用されている。

1. Niinobe M *et al.* Cellular and subcellular localization of necdin in fetal and adult mouse brain. *Dev Neurosci* (2000) **22**: 310-319 PMID: [10965153](#). **WB, IHC-F (mouse)**
2. Taniguchi N. *et al.* The Postmitotic Growth Suppressor Necdin Interacts with a Calcium-binding Protein (NEFA) in Neuronal Cytoplasm. *J Biol Chem.* 2000 Oct 13;275(41):31674-81. PMID:[10915798](#). **WB, IP, IHC-F, Immunoaffinity column (mouse)**
3. Kobayashi M. *et al.* Ectopic Expression of Necdin Induces Differentiation of Mouse Neuroblastoma Cells. *J Biol Chem.* 2002 Nov 1;277(44):42128-35. PMID:[12198120](#) **WB, IP (mouse)**
4. Tcherpakov M. *et al.* The p75 Neurotrophin Receptor Interacts with Multiple MAGE Proteins. *J Biol Chem.* 2002 Dec 20;277(51):49101-4. PMID:[12414813](#) **WB, IF (rat)**
5. Andrieu A. *et al.* Expression of the Prader-Willi gene Necdin during mouse nervous system development correlates with neuronal differentiation and p75NTR expression. *Gene Expr Patterns.* 2003 Dec;3(6):761-5. PMID:[14643685](#) **IHC (mouse), KO Validation**
6. Kuwajima T *et al.* Necdin interacts with the Msx2 homeodomain protein via MAGE-D1 to promote myogenic differentiation of C2C12 cells. *J Biol Chem* (2004) **279**: 40484-40493 PMID: [15272023](#). **WB, IP, IF, IHC (mouse)**
7. Brunelli S. *et al.* Msx2 and necdin combined activities are required for smooth muscle differentiation in mesoangioblast stem cells. *Circ Res.* 2004 Jun 25;94(12):1571-8. PMID:[15155529](#). **IHC-F (mouse)**
8. Hoek K. *et al.* Expression Profiling Reveals Novel Pathways in the Transformation of Melanocytes to Melanomas. *Cancer Res.* 2004 Aug 1;64(15):5270-82. PMID:[15289333](#). **WB, IF (human)**
9. Kuwako K. *et al.* Disruption of the Paternal Necdin Gene Diminishes TrkA Signaling for Sensory Neuron Survival. *J Neurosci.* 2005 Jul 27;25(30):7090-9. PMID:[16049186](#) **WB,IP, IHC-F, Immunoaffinity assay (mouse) , KO-Validation for WB and IHC-F**
10. Goldfine AB. *et al.* Necdin and E2F4 Are Modulated by Rosiglitazone Therapy in Diabetic Human Adipose and Muscle Tissue. *Diabetes.* 2006 Mar;55(3):640-50. *Diabetes.* 2006 Mar;55(3):640-50. PMID:[16505226](#). **WB, IF (mouse)**
11. Kuwajima T *et al.* Necdin promotes GABAergic neuron differentiation in cooperation with Dlx homeodomain proteins. *J Neurosci.* (2006) **26**(20):5383-92. PMID:[16707790](#) **WB, IHC-F, IP, Immunoaffinity assay (mouse)**
12. Andrieu D. *et al.* Sensory defects in Necdin deficient mice result from a loss of sensory neurons correlated within an increase of developmental programmed cell death. *BMC Dev Biol.* 2006 Nov 20;6:56. PMID: [17116257](#). **WB (mouse)**
13. López-Sánchez N. *et al.* Single *mage* gene in the chicken genome encodes CMage, a protein with functional similarities to mammalian type II Mage proteins. *Physiol Genomics.* 2007 Jul 18;30(2):156-71. PMID: [17374844](#) **IF/IC, IHC-F (mouse)**

14. Kurita M *et al* Necdin downregulates Cdc2 expression to attenuate neuronal apoptosis. *J Neurosci* (2006)**26**: 12003-12013 PMID: [17108174](#). **WB, ChIP, IF, IHC-F (mouse), KO-Validation for WB**
15. Kubota Y. et al. Necdin restricts proliferation of hematopoietic stem cells during hematopoietic regeneration. *Blood*. 2009 Nov 12;114(20):4383-92. PMID:[19770359](#) **IF (mouse)**
16. Morillo SM. et al. Nerve Growth Factor-Induced Cell Cycle Reentry in Newborn Neurons Is Triggered by p38MAPK-Dependent E2F4 Phosphorylation. *Mol Cell Biol*. 2012 Jul;32(14):2722-37. PMID:[22586272](#). **WB, IP, (chicken)**
17. Minamide R *et al* Antagonistic Interplay between Necdin and Bmi1 Controls Proliferation of Neural Precursor Cells in the Embryonic Mouse Neocortex. *PLoS One*. (2014) **9** (1) PMID: [24392139](#). **WB, IF, IP (mouse). Validated with KO mice for WB and IHC-F**
18. Fujimoto I. et al. Necdin controls EGFR signaling linked to astrocyte differentiation in primary cortical progenitor cells. *Cell Signal*. 2016 Feb;28(2):94-107. PMID: [26655377](#) **WB, IP, (mouse)**
19. Hasegawa K. et al. Promotion of mitochondrial biogenesis by necdin protects neurons against mitochondrial insults. *Nat Commun*. 2016 Mar 14;7:10943. PMID: [26971449](#). **WB, IHC-F, (mouse) Validated with KO mice for WB**