

抗 CDT2/DTL 抗体, ウサギ抗血清, 特異性検証済

70-115 100 µl

保存: 4℃または-20℃で送付、-20℃で保存。

免疫原: 大腸菌で発現して精製した His-tag を付けた Cdt2 タンパク質の C 末 150 アミノ酸を含む組換え体

形状: 0.05%アジドナトリウムを添加したウサギ抗血清

特異性検証: siRNA を用いて、ウェスタンブロットで特異的反応性を検証 (図 2)

反応性: ヒト、マウス、ラット、ハムスター

用途

1. ウェスタンブロット法 (1/200-1/2,000 希釈)。
2. 免疫沈降
3. 免疫蛍光染色 (1/100~1/1,000 希釈)
4. Flow Cytometry

キーワード;ユビキチン化, タンパク質分解, Cdt1, CDKN1A/p21(CIP1), 細胞周期, DNA 損傷応答, ATR, Phosphorylation, Translesion DNA synthesis

背景: CDT2 (ヒト, 730 aa, 79.5 kDa) は、細胞周期制御、DNA 損傷応答および損傷乗越え型 DNA 合成のために必要な DCX (DDB1-CUL4-X-box) E3 ユビキチンタンパク質リガーゼ複合体の基質特異性アダプターである。DCX (DTL) 複合体 (別名 CRL4 (CDT2) 複合体) は、CDT1 および CDKN1A/p21(CIP1)のポリユビキチン化および後の分解を調節する。DNA 損傷に応じて起こる CDT1 分解は、DNA 複製の適切な細胞周期制御を保證するのに必要である。S 期または UV 照射後の CDKN1A/p21(CIP1)分解は、複製ライセンスを制御するのに必須である。ほとんどの基質は、ポリユビキチン化に PCNA との相互作用を必要とする: 基質は PIP ボックスを介して PCNA と相互作用し、PIP-box 中に 'K+4'モチーフを含む基質は DCX (DTL) 複合体をリクルートして分解に至る。損傷を受けていない増殖細胞では、DCX (DTL) 複合体が PCNA の「Lys-164」の mono-ubiquitination を推進し、PCNA-依存性 translesionDNA 合成に関与する。DNA 損傷後、CDT2 は、チェックポイントキナーゼ ATR によって活性化される。

データベース・リンク; [SwissProt: Q9NZJ0](#) Human

[Entrez Gene: 51514](#) Human

文献: この抗体は論文 1 に記載され、以下の全論文で使用されている。

1. Nishitani H. et al. (2008) CDK Inhibitor p21 Is Degraded by a Proliferating Cell Nuclear Antigen-coupled Cul4-DDB1^{Cdt2} Pathway during S Phase and after UV Irradiation. J.Biol.Chem. 283: 29045-29052. **WB** [Link](#)
2. Ishii T. et al. (2010) Proliferating cell nuclear antigen-dependent rapid recruitment of

Cdt1 and CRL4Cdt2 at DNA-damaged sites after UV irradiation in HeLa cells. J Biol Chem. 285:41993-42000. **WB, IF, FACS** [Link](#)

3. Roukos V. et al. (2011) Dynamic recruitment of licensing factor Cdt1 to sites of DNA damage. J. Cell Science 124: 422-434. **IF** [Link](#)
4. Sakaguchi H. et al. (2012) Checkpoint Kinase ATR Phosphorylates Cdt2, a Substrate Receptor of CRL4 Ubiquitin Ligase, and Promotes the Degradation of Cdt1 following UV Irradiation. PLoS ONE 7(9): e46480. **WB** [Link](#)
5. Shiomi Y. et al. (2012) Two Different Replication Factor C Proteins, Ctf18 and RFC1, Separately Control PCNA-CRL4^{Cdt2}-Mediated Cdt1 Proteolysis during S Phase and following UV Irradiation. Mol. Cell. Biol. 32: 2279-2288. **WB, IF** [Link](#)

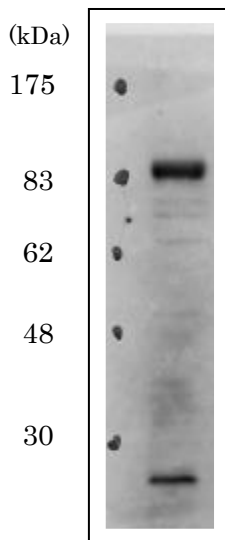


Fig.1. ウェスタンブロット法による HeLa 細胞の全細胞抽出液中の Cdt2 タンパク質の同定。20 μ g のタンパク質を含む細胞抽出物中の内在性レベルの Cdt2 タンパク質は、1/2,000 の希釈した抗体で検出された。二次抗体は、1/20,000 希釈した HRP 結合ヤギ抗ウサギ IgG 抗体を用いた。

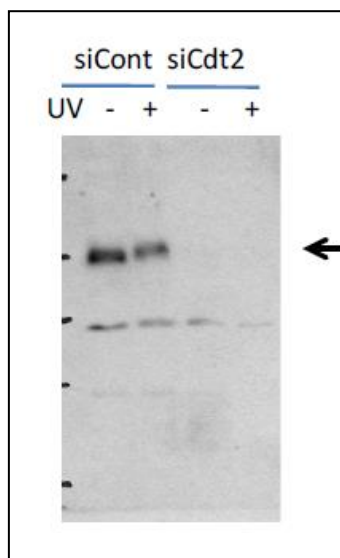


Fig.2. Cdt2 siRNA による Cdt2 タンパク質特異的合成阻害。siCont は、Cdt2 と無関係なネガティブ対照の siRNA である。siCdt2 は、Cdt2 特異的 siRNA である。照射試料(UV+)のバンドシフトアップにより示されるように、Cdt2 は、UV 照射後リン酸化される。

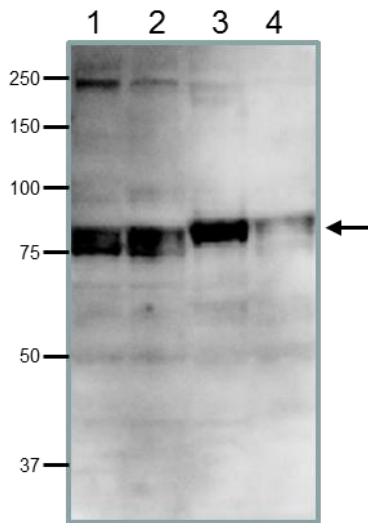


図 3. ヒトとケツシ類の細胞粗抽出液中での Cdt2 のウエスタンブロット.

細胞粗抽出液:40 μ g. 抗 Cdt2 抗体は 1/200 希釈で用いた。二重バンドは Cdt2 タンパク質がリン酸化したためである。

1. HeLa 細胞 (ヒト)
2. MCF7 細胞 (ヒト)
3. NIH3T3 細胞 (マウス)
4. CHO 細胞 (ハムスター)

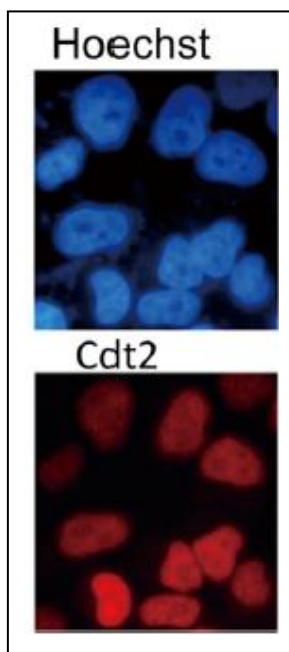


図 4. 増殖中の HeLa 細胞中の Cdt2 タンパク質の免疫蛍光染色。のため DNA のためと共にそして抗体と共に、非同調で増殖中の HeLa 細胞の DNA を Hoechst 33258 で、Cdt2 タンパク質を本抗体で染色した。細胞は、10 分間の 4%パラホルムアルデヒドで固定し、リン酸緩衝食水(PBS)中に 0.25%(v/v)の Triton X-100 を含む溶液で透過処理し、一次抗体と反応させた。Alexa-592 コンジュゲートしたヤギ抗ウサギ IgG を二次抗体として使用した。Cdt2 タンパク質は、すべての細胞ステージで核に局在する。