

## 抗 Dnmt3b 抗体, ウサギポリクローナル, ChIP grade, KO-Validated

70-206 100 µl

保存: 4°Cまたは-20°Cで送付、-20°C で保存。

抗原: リコンビナント マウス Dnmt3b (アミノ酸 No. 1-181) (accession no. [AF068626](#))

形状: ~0.3 mg/ml in PBS<sup>-</sup> with 50% glycerol

精製: リコンビナント Dnmt3b で affinity 精製した IgG

反応性: マウス、ラット

### 用途:

- 1) ウェスタンブロッティング (3,000 倍希釈)
- 2) 免疫沈降 (1,000 倍希釈)。
- 3) ChIP assays (assay dependent)。
- 4) 間接免疫蛍光染色 (5,000 倍希釈)

**背景:** 脊椎動物の染色体 DNA では CpG と並ぶ配列の C の 5 位がしばしばメチル化修飾されている。このメチル化修飾は組織特異的な遺伝子の発現、遺伝子刷り込み、X 染色体の不活化、複製のタイミング、癌化など様々な生命現象に重要な役割を担っている (エピジェネティクス)。DNA メチル化酵素 **Dnmt3b** (DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3b) はメチル化パターンの維持よりも de novo メチル化に寄与していると考えられている。この酵素は核に局在し、その発現は発生段階的に制御されている。**Dnmt3b** 遺伝子に変異が起きた疾患は immunodeficiency-centromeric instability-facial anomalies (ICF) syndrome として知られる。

データリンク: UniProtKB/Swiss-Prot [O88509](#) (DNM3B\_MOUSE)

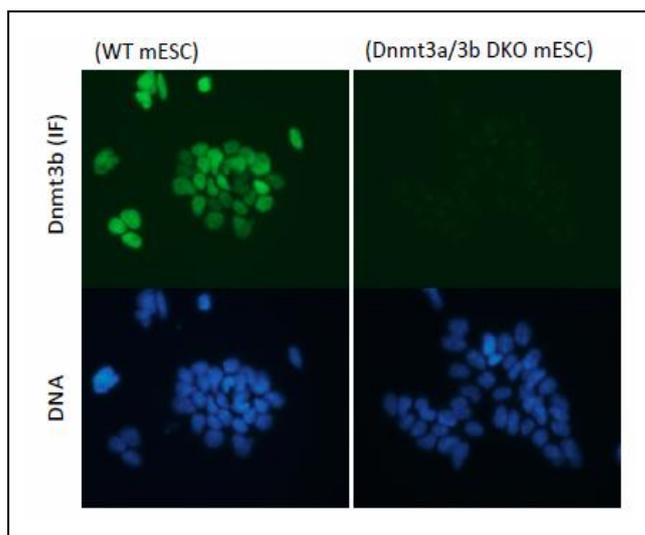


図1 免疫染色、Dnmt3b 野生型及びノックアウトマウス ES 細胞

左図: 野生型マウス ES 細胞

右図: Dnmt3a/3b KO マウス ES 細胞

Cells were grown in GMEM 10% FCS+LIF in gelatinized 48-well plate. Fixed with 4% PFA/PBS for 30 min at 4°C. Anti-Dnmt3b antibody was used at 1/5,000 (上図). DNA was stained with DAPI (下図).

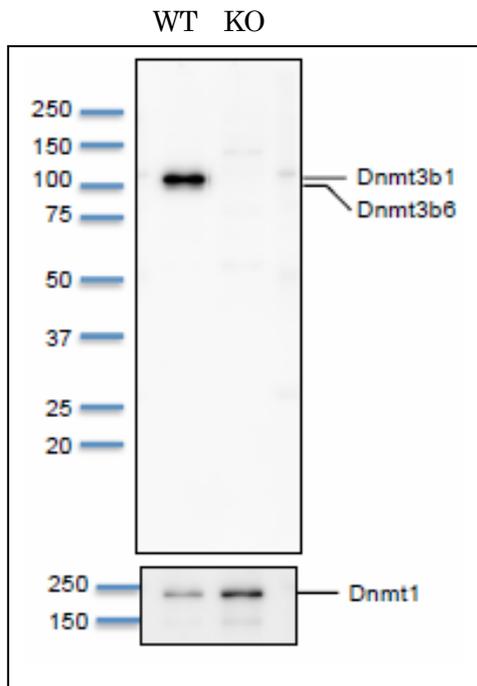


図2 Dnmt3b タンパク質のウェスタンブロット：  
野生型と Dnmt3b/3a KO マウス ES 細胞

左レーン; Extract of wild-type ES cells.

右レーン; Extract of Dnmt3a/3b KO ES cells.

8% SDS-PAGE

Blotted onto PVDF.

Blocked with 5% skim milk.

The antibody was used at 1/3,000.

Image was taken with Chemi-Lumi One Super LAS4000, 10 min exposure.

As a control, western blot was done with Dnmt1 antibody reprobed.

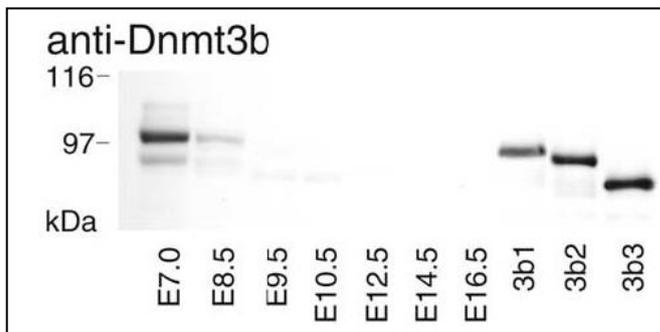


図3 Dnmt3b のウェスタンブロッティング

マウス胚ステージ E7.0-E16.5 における Dnmt3b 発現量をウェスタンブロッティングにより調べた。

胚は 0.1% SDS 存在下で sonication または homogenization により可溶化した。10ug (蛋白量) の各ステージ胚において、この抗体を用いたウェスタンブロッティングを行ったところ、Dnmt3b は E7.0 胚において発現量が多かったが、その後減少し、E10.5 より後では検出できなかった。

また、Dnmt3b アイソフォーム (3b1, 3b2 と 3b3) を 293T 細胞にトランジェントに発現させたところ、これらのアイソフォームはこの抗体によって検出可能であった。

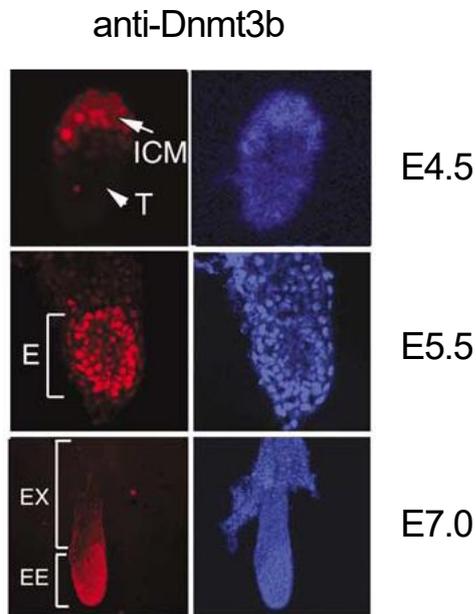


図4 マウス胚における Dnmt3b の免疫蛍光染色

ステージ E4.5, 5.5, 7.0 のマウス胚を cold acetone 固定し、この抗体および DAPI(青)で染色した。ALEXA568 (赤)と結合させた抗ウサギ IgG を 2 次抗体として用いた。ICM (the inner cell mass)は矢印で、trophectoderm (T)は矢頭で示している。epiblast (E)、embryonic ectoderm (EE)と extraembryonic region (EX)は四角の括弧で示している。Dnmt3b はステージ E4.5-7.0 において存在し、E4.5 では ICM に、E5.5 では epiblast に、E7.0 では embryonic ectoderm に局在した。

文献: この抗体は以下の文献に使用されている。

1. Aoki A *et al* “Enzymatic properties of *de novo*-type mouse DNA (cytosine-5) methyltransferases” *Nucleic Acids Research* **29**: 3506-3512 (2001) PMID: [11522819](#) **WB (mouse)**
2. Watanabe D *et al* “Stage- and cell-specific expression of Dnmt3a and Dnmt3b during embryogenesis” *Mechanisms of Development* **118**: 187-190 (2002) PMID: [12351185](#) **WB, IF, IHC-F (mouse)**
3. Suetake I *et al*. “DNMT3L stimulates the DNA methylation activity of Dnmt3a and Dnmt3b through a direct interaction.” *J Biol Chem*. 2004 Jun 25;279(26):27816-23. PMID:[15105426](#) **WB, IP (mouse)**
4. Sakai Y *et al* “Co-expression of de novo DNA methyltransferases Dnmt3a2 and Dnmt3L in gonocytes of mouse embryos” *Gene Expression Patterns* **5**: 231-237 (2004) PMID: [15567719](#) **WB, IHC-F (mouse)**
5. Hirasawa R *et al*. “Maternal and zygotic Dnmt1 are necessary and sufficient for the maintenance of DNA methylation imprints during preimplantation development.” *Genes Dev*. 2008 Jun 15;22(12):1607-16. PMID: [18559477](#) **IF (mouse)**

関連製品: #70-201 Anti-Dnmt1 (1-248) antibody, rabbit polyclonal, ChIP grade, KO-Validated