

Ab-Carrier™ を用いた抗核膜孔複合体(NPC)抗体導入による HeLa 細胞増殖阻害

実験プロトコール

HeLa 細胞を 96-well plate に播種
 (5×10^4 cell / mL; 培地液量 MEM (+10% FBS) 0.1 mL / well)
 ↓ 37°C, 5% CO₂ 存在下, 24 時間 培養
 抗NPC抗体 (0.1 mg/mL) 10 μL に Ab-Carrier 0.5 μL を加え、よく混和
 ↓ 室温, 20 分間 静置
 24 時間培養後の HeLa 細胞に反応液 10.5 μL / well を添加
 ↓ 37°C, 5% CO₂ 存在下, 4 時間 インキュベーション
 培地を除去し、PBS で 0.1 mL / well × 2 回 洗浄
 ↓ ↓
 0.25% Trypsin-EDTA 20 μL / well を添加
 ↓ 37°C, 5% CO₂ 存在下, 2 分間 インキュベーション
 MEM (+10% FBS) 0.2 mL を添加
 ↓
 細胞数計測

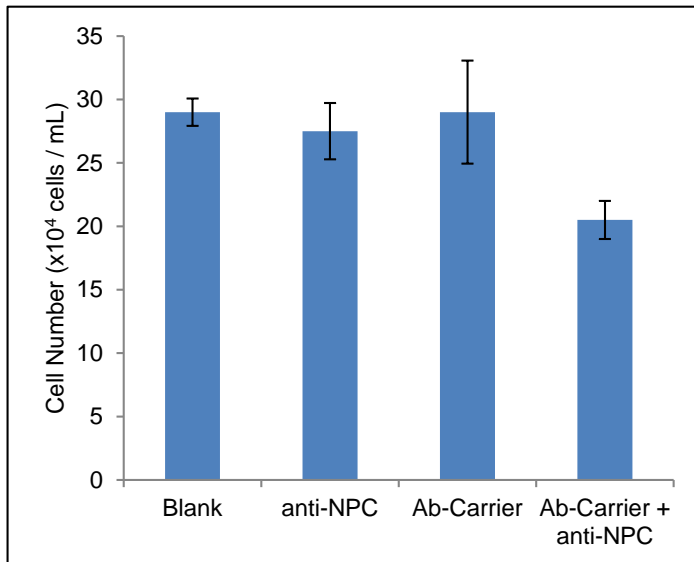


図1. 抗NPC抗体による細胞増殖阻害 (n=4)

Blank: 未処理
 anti-NPC: 抗NPC抗体のみ添加
 Ab-Carrier: Ab-Carrier のみ添加
 Ab-Carrier+anti-NPC:
 Ab-Carrierと抗NPC抗体のミクスチャーを添加

使用した抗体:
 Anti-NPC antibody (Sigma-Aldrich)
 Monoclonal Anti-Nuclear Pore Complex
 Proteins, clone 414 (mouse IgG1)

抗体は、防腐剤(NaN₃)を除去するため、脱塩処理を行ってから使用した。

96-well plate に播種24時間後のHeLa細胞 (5×10^4 cells / mL) に、抗体トランスフェクション試薬 Ab-Carrier と抗核膜孔複合体(NPC)抗体のミクスチャーを添加し、24 時間培養後の細胞数を未処理(blank)の細胞と比較した。Ab-Carrierと抗NPC抗体のミクスチャーを添加した細胞では、細胞増殖が未処理細胞の約69%に抑制された。細胞内に導入された抗体が核膜孔複合体に結合し、核膜を介した物質輸送を阻害したためと考えられる。

プロテノバ株式会社

〒769-2604
 香川県東かがわ市西村1488番地1
 TEL 0879-49-0702 / FAX 0879-49-0703
 ホームページ <http://protenova.com>