

SGNP Products

SGNPs

Cat. No.	PRODUCT NAME	Cat. No.	PRODUCT NAME
G-00M-100	Alpha-Glucosyl-GNP	G-00C-100	Beta-Glucosyl-GNP
G-00E-100	Alpha-Galactosyl-GNP	G-00L-100	Beta-Galactosyl-GNP
G-AGN-100	Alpha-GlcNAc-GNP	G-BGN-100	Beta-GlcNAc-GNP
G-AAN-100	Alpha-GalNAc-GNP	G-BAN-100	Beta-GalNAc-GNP
G-OAF-100	Alpha-Fucosyl-GNP	G-0BF-100	Beta-Fucosyl-GNP
G-AMA-100	Alpha-Mannosyl-GNP		
G-03S-100	3SialylGalactosyl-GNP	G-06S-100	6SialylGalactosyl-GNP

*それぞれ Buffer 1 ml に溶解時、 $Abs_{530nm} = 3.0 [/\text{cm}]$

SGNP set

Cat. No.	PRODUCT NAME	Content
G-AB1-250	SGNPs #1	Alpha-Glucosyl-GNP, Beta-Glucosyl-GNP, Alpha-Galactosyl-GNP, Beta-Galactosyl-GNP, Alpha-GlcNAc-GNP, Beta-GlcNAc-GNP, Alpha-GalNAc-GNP, Beta-GalNAc-GNP, Alpha-Fucosyl-GNP, Beta-Fucosyl-GNP, Alpha-Mannosyl-GNP の 11 種類の SGNP
G-AB2-250	SGNPs #2	Alpha-Glucosyl-GNP, Beta-Glucosyl-GNP, Alpha-Galactosyl-GNP, Beta-Galactosyl-GNP, Alpha-GlcNAc-GNP, Beta-GlcNAc-GNP, Alpha-GalNAc-GNP, Beta-GalNAc-GNP, Alpha-Fucosyl-GNP, Beta-Fucosyl-GNP, Alpha-Mannosyl-GNP, 3SialylGalactosyl-GNP, 6SialylGalactosyl-GNP の 13 種類の SGNP

*それぞれ Buffer 250 μl に溶解時、 $Abs_{530nm} = 3.0 [/\text{cm}]$

製品の特長

SGNP (Sugar - immobilized Gold Nano-Particle) は、各々の糖鎖が固定された約 530nm に最大吸収波長を持つ赤紫色の金ナノ粒子です。レクチンなどの多価の糖鎖結合性タンパク質と混合する事により、糖鎖との相互作用を目視で確認する事ができます。また吸光度を測定する事で定量化が可能であり、タンパク質の精製や単離・同定等の実験など、SGNP を使用する事で以下の応用例などでご使用頂けます。

1. SGNP-タンパク質凝集実験
2. SGNP-タンパク質凝集阻害実験
3. ドットプロットティング
4. 粗抽出液から目的タンパク質の単離・同定

*本製品は研究用試薬です。他の目的に使用しないでください。

形態

凍結乾燥品

保存

常温で 1 年間安定

バッファー溶解

カタログ番号 Cat.No. G-***-100 の製品について

Buffer を 1 ml 溶解すると、 $Abs_{530nm} = 3.0 [/\text{cm}]$ になります。

カタログ番号 Cat.No. G-***-250 の製品について

Buffer を 250 μl 溶解すると、 $Abs_{530nm} = 3.0 [/\text{cm}]$ になります。

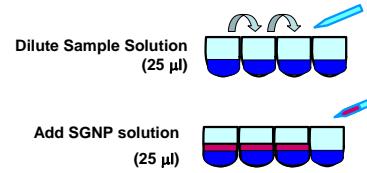
PBS や TBS など適宜お好みのバッファーを加えて、よく溶解して下さい。

*メルカプトエタノール等の還元剤の添加により凝集塊が形成される事があります。

SGNP-タンパク質凝集実験

96 穴タイタープレート(丸底)に、各濃度に調製したレクチンなどの多価の糖鎖結合性タンパク質溶液(レクチンなど)に対して、各 SGNP 溶液を添加する事により、タンパク質との結合活性を調べます。

(使用例)



1. バッファーを添加して、SGNP 溶液を $Abs_{530nm} = 3.0$ に調製。

*「バッファー溶解」をご参照ください。

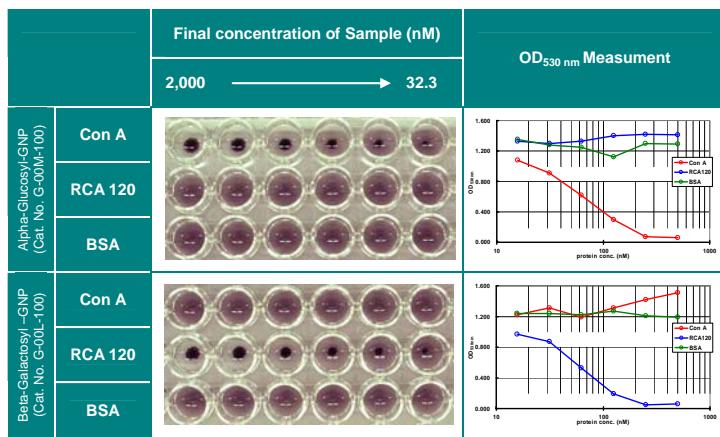
2. 96 穴タイタープレート(丸底)に、各濃度に調製したサンプル溶液(レクチンなど)を、25 μl 添加。

*サンプルの最大濃度 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 程度(または 4 μM 程度)より、2 倍連続希釈で、8 点程度調整します。

3. 1.にて調製した SGNP 溶液 25 μl を添加した後、30 分~2 時間程度緩やかに攪拌。

4. 凝集塊を除く上清の吸光度(Abs_{530nm})を測定。

(実施例)



* Con A<Concanavalin A> (EY LABORATORIES 社, Cat. No.L1104250)

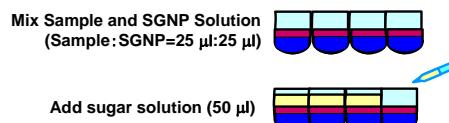
RCA120<Ricinus communis Agglutinin I> (Vector 社, Cat. No.L-1080)

BSA <Albumin, bovine serum> (SIGMA Aldrich 社, Cat. No.A0281)

SGNP-タンパク質凝集阻害実験

単糖類、二糖類、オリゴ糖類、糖鎖類似物質あるいは糖タンパク質を共存させることにより、その多価の糖鎖結合性タンパク質溶液(レクチンなど)の糖結合特異性を明らかにする時に使用します。

(使用例)



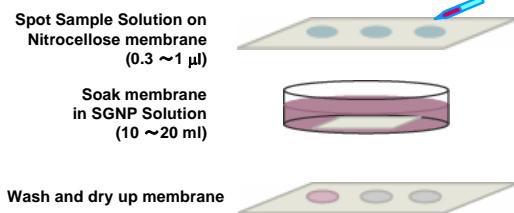
- バッファーを添加し、SGNP 溶液を $Abs_{530nm} = 4.0 \sim 6.0$ に調製。
*「バッファー溶解」をご参照ください。
- 96 穴タイタープレート(丸底)に、一定濃度に調製したサンプル溶液(レクチンなど)25 μl と SGNP 溶液 25 μl を添加。
*サンプル濃度は、「SGNP-タンパク質凝集実験」にて、完全に凝集が起こる最低濃度を使用する事をお奨めします。
- 阻害溶液(オリゴ糖鎖など)を 0.1 ~ 50 mM/バッファーを調製したものを、それぞれ 50 μl を添加後、1 時間 から 一晩緩やかに攪拌。
- 凝集塊を除く上清の吸光度(Abs_{530nm})を測定。

ドットプロッティング

ニトロセルロース膜にタンパク質等の糖鎖結合性サンプルをスポットしておき、SGNP 溶液に浸す事によって、糖鎖結合の有無を確認できます。

* 単価結合の糖鎖結合性タンパク質に対しても結合実験が行えます。

(使用例)



- 使用するバッファーを添加し、SGNP 溶液を $Abs_{530nm} = 0.15 \sim 0.30$ を 10~20ml 調製。
*「バッファー溶解」をご参照ください。
*SGNP 溶液は、使用するメンブレン寸法およびガラス容器に合わせた容量を作成ください。
- ニトロセルロース膜を 1.0 x 3.0 cm 程度にカット。
*例 Trans-Blot[®] Transfer Medium, Pure Nitrocellulose Membrane (0.2 μm) (Bio-Rad 社, Cat. No.162-0146)
- 0.1~2.0 $\mu\text{g} / \text{spot}$ になるように、サンプル溶液をスポット。
- $\phi 5.0\text{cm}$ のシャーレなどのガラス容器に SGNP 溶液 10 ml を注ぎ上記にて作成したメンブレンを、ピンセットなどを用いて浸漬し、5~30 分間緩やかに攪拌。
*適宜ピンセット等を用いてメンブレンを SGNP 溶液より取り出して、染色具合を確認してください。
- メンブレンをバッファーにて洗浄し、乾燥。
*メンブレンのみが染色する場合は、SGNP 溶液濃度を下げるか、浸漬時間を短くしてください。

(実施例)

SGNP	Sample	Con A	WGA	RCA 120
Alpha-Glucosyl-GNP (Cat.No. G-00M-100)				
Beta-Galactosyl-GNP (Cat.No. G-00L-100)				
Beta-GlcNAc-GNP (Cat.No. G-AGN-100)				

* Con A<Concanavalin A> (EY LABORATORIES 社, Cat. No.L1104250)

RCA120<Ricinus communis Agglutinin I> (Vector 社, Cat. No.L-1080)

WGA(Wheat Germ) (生化学工業株式会社, Cat. No.5400)

粗抽出液から目的タンパク質の単離・同定

多価の糖鎖結合性タンパク質が含まれる植物などの抽出液や細胞ライセートなどと、SGNP 溶液を混合して形成させた凝集塊には、特定の糖鎖結合性を有するサンプルが存在します。その凝集塊自身をポリアクリルアミド電気泳動(SDS-PAGE)等に供する事により、特定の目的タンパク質を同定する事が可能です。

(使用例)

Mix Sample and SGNP Solution
(Sample: SGNP=50 μl :50 μl)



Incubate (2h ~ O/N)



Spin down and wash



Add Loading buffer for SDS-PAGE
(10~30 μl)



- バッファーを添加し、SGNP 溶液を $Abs_{530nm} = 3.0$ に調製。

*「バッファー溶解」をご参照ください。

- 植物からの抽出液等のサンプル溶液を 50 μl と SGNP 溶液 50 μl をエッペンチューブ内で混合し 1 時間 から 一晩、緩やかに攪拌。

* 抽出液等内の目的物濃度によって、サンプル溶液濃度は、500 ~ 10 mg/ml 程度を目安として御検討ください。

* サンプルの性質によって、4°C下で緩やかに攪拌してください。

- 6,000 ~ 10,000 $\times g$ で 10 分間遠心し、上清を除去。

- バッファーを 500 μl 添加し、6,000 ~ 10,000 $\times g$ で 10 分間遠心し、上清を除去

- 3.、4.を 2 回繰り返し。

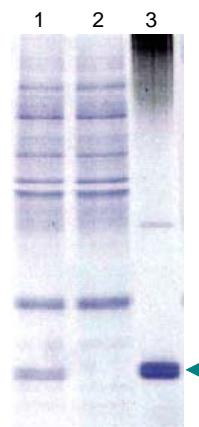
- 凝集塊をそのまま SDS-PAGE 用 sample Buffer 10~30 μl で溶解し、10 分間煮沸。

*例 Laemmli Sample Buffer (Bio-Rad 社, Cat. No.161-0737)

- 電気泳動。

*還元/非還元のどちらの泳動条件でも問題ありません。

(実施例)



- Extract
- Supernatant
- SGNP-complex

Target protein