

キットで簡便にはじめる

最先端のLLPS研究

検討応援 キャンペーン
実施中!!

本誌裏面をご覧ください

▶ LLPS スターターキット
LLPS Starter Kit



LL01 同仁 検索

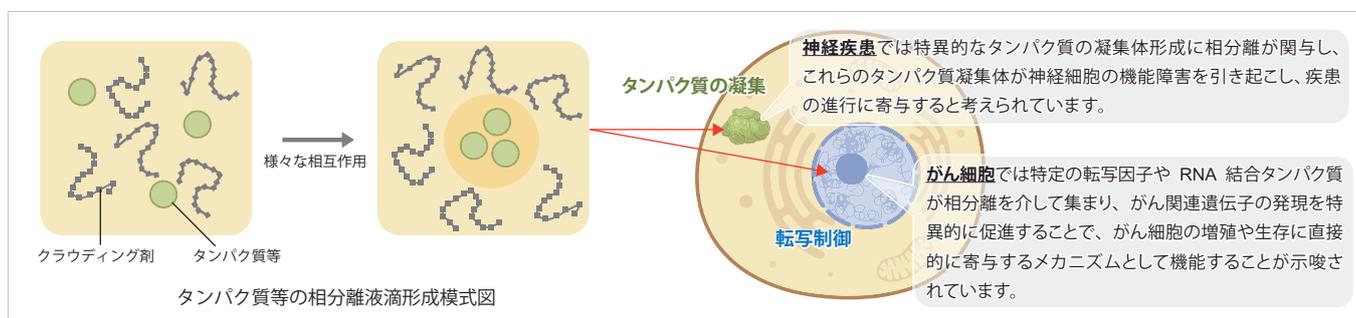
▶ LLPS 作製・条件検討セット
LLPS Forming Condition Screening Kit



LL02 同仁 検索

液-液相分離(LLPS)とは

液-液相分離 (liquid-liquid phase separation: LLPS)は細胞内で特定の分子が局所的に集まり、液体のような性質を持つ生体分子の凝集体(液滴)を形成する現象です。近年、LLPS が細胞内での多くの生物学的プロセスに影響を与えることが明らかになり注目を浴びています。相分離によって形成される液滴の研究はまだ初期段階ですが、これらの生物学的な現象がどのようにして細胞の機能や疾患の発症に影響を与えるかを解明することは、新しい治療法の開発につながる重要な鍵と考えられています。



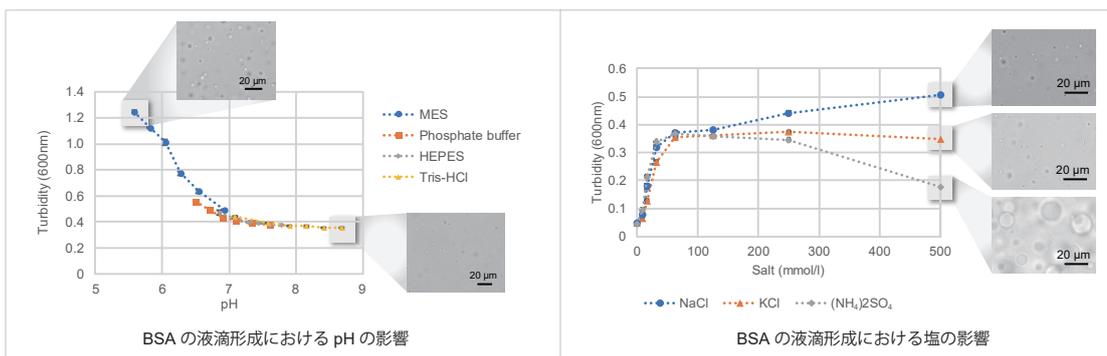
参考文献 E. Dolgin, *Nature*, 2018, DOI: 10.1038/d41586-018-03070-2.

LLPS 研究をすぐにはじめられるキット

LLPS 研究は 最適な条件検討と 使う試薬が多いのがハードル

一般的に LLPS 研究を始める際には、細胞を用いない系で標的タンパク質が液滴を形成するかの確認を行うことが多いです。しかしながらこのステップも、タンパク質によって最適条件は異なり、pH や塩の種類、クラウディング剤の有無*など様々な検討事項や注意点が、またさらに取り揃える試薬も多いため、初めての検討時には多くの労力がかかります。

*クラウディング剤(分子夾雑物再現剤)：細胞内の混みあった環境を再現するために添加される、PEG や Ficoll などの高分子。



液滴を観察する、液滴作製条件を見つける、2つのキット

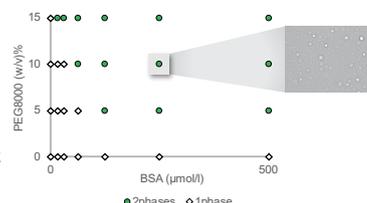
▶ 液滴作成法・観察方法の確認
LLPS Starter Kit

- ・マイクロピペットと顕微鏡だけで液滴の観察が可能
- ・計算例や操作詳細を記載した取扱説明書付き
- ・液滴形成のポジティブコントロールに最適



▶ 標的タンパク質液滴の最適条件の確認
LLPS Forming Condition Screening Kit

- ・液滴作製条件の検討に必要な試薬のセット
- ・本キットでクラウディング剤、pH、塩の検討が可能
- ・pHの異なる緩衝液を混合し、各種 pH の緩衝液調整が可能
- ・緩衝液の pH 調整方法を記載した取扱説明書付き



同梱の試薬ですぐにはじめられる

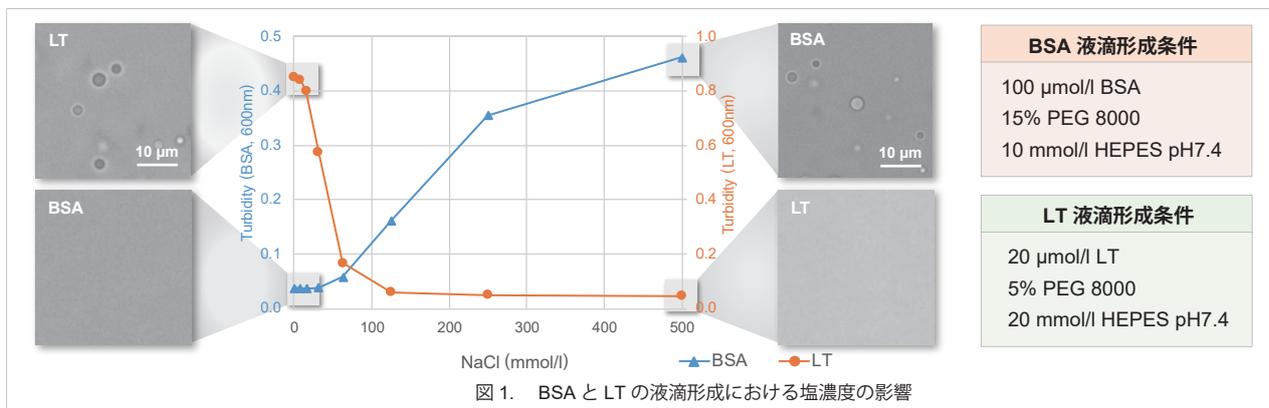
▶ 液滴作成法・観察方法の確認 LLPS Starter Kit : キット内容		
1. タンパク質	BSA	10 mg × 1
2. 緩衝液	BSA Dissolving Buffer (20 mmol/l HEPES, 150 mmol/l NaCl)	420 μl × 1
	Assay Buffer (60 mmol/l HEPES, 450 mmol/l NaCl)	100 μl × 1
3. クラウディング剤	30% PEG8000 Solution	100 μl × 1
4. 観察容器	Slide Glass with Double-Sided Tape	× 2
	Cover Glass	× 4
5. 調製容器	1.5 ml Micro Tube	× 4
	0.5 ml Micro Tube	× 4

▶ 標的タンパク質液滴の最適条件の確認 LLPS Forming Condition Screening Kit : キット内容		
1. クラウディング剤	PEG400 (液体)	15 g
	PEG4000 (粉末)	15 g
	PEG8000 (粉末)	15 g
2. 緩衝液	500 mmol/l MES Buffer Solution pH 5.5 / pH 7.0	各 10 ml
	500 mmol/l Phosphate Buffer Solution pH 6.0 / pH 7.5	各 10 ml
	500 mmol/l HEPES Buffer Solution pH7.0 / pH8.0	各 10 ml
	500 mmol/l Tris-HCl Buffer Solution pH7.0 / pH9.0	各 10 ml
3. 塩類	2 mol/l Sodium Chloride Solution	20 ml
	2 mol/l Potassium Chloride Solution	20 ml
	2 mol/l Ammonium Sulfate Solution	20 ml

実験例 液滴形成におけるタンパク質「間」相互作用(液滴の性質)の検討

タンパク質が LLPS により液滴を形成する際には様々な相互作用が関与しており、代表的なものにタンパク質の電荷を利用した静電的相互作用や疎水性の高いタンパク質による疎水性相互作用などがあります。パーキンソン病の原因タンパク質の一つであるα-シヌクレイン(α-Syn)は、LLPS による液滴形成を起こすことが知られています。α-Syn のリン酸化模倣変異体である S129E では液滴形成が促進し、この液滴形成の促進が相互作用の変化に起因し^{*1}、α-Syn のリン酸化模倣変異は病変形成に関与する凝集を促進することが知られています^{*2}。

ここでは LLPS Starter Kit と LLPS Forming Condition Screening Kit 用いて、Bovine serum albumin (BSA) と Lactoferrin (LT) の液滴形成におけるタンパク質相互作用の違いを確認しました。BSA は疎水性相互作用、LT は静電的相互作用を介して液滴形成が主に行われています^{*1}。塩濃度(NaCl)を上げることで静電的相互作用を阻害すると、LT の液滴形成は阻害されたことから報告通り LT は静電的相互作用で主に液滴が形成・維持されていることが確認できました(図1)。一方で、BSA は NaCl 濃度依存的に液滴形成が促進され(図1)、これは塩濃度の増加によりタンパク質同士が近接し疎水性相互作用が強くなったことが理由として推察されます。



参考文献 ※ 1 Manisha Poudyal et al., Nature, 2023, 14, 6199. ※ 2 Soumik Ray et al., Nature, 2020, 12, 705-716.

LLPS 検討-観察 応援キャンペーン!!



▶ LLPS 作製・条件検討セット ご購入者に、▶ LLPS スターターキット を進呈。くわしくは Web へ

LL01 同仁 検索

製品名	容量	希望納入価格	和光コード	メーカーコード
▶ LLPS Starter Kit	1 set *	¥ 19,800	341-10211	LL01
▶ LLPS Forming Condition Screening Kit	300 tests	¥ 39,800	348-10221	LL02

※ 〈使用回数の目安〉 1 set あたり、スライドガラス 2 枚 (4 tests) 同梱

1) 記載価格は本体価格のみで、消費税等は含まれておりません。
 2) 記載価格はこのパンフレット編集時(2024年8月)における希望納入価格です。予告なしに変更する場合がございますのでご注意ください。
 3) 試験研究用のみに使用するものです。医療用その他の目的には使用できません。
 4) 記載の社名・商品名等の名称は、弊社または各社の商標または登録商標です。

論文・技術情報を随時更新中!

製品コード 同仁 検索

国内販売元

富士フイルム 和光純薬株式会社

URL : ffwk.fujifilm.co.jp

Free Dial : 0120-052-099

Free Fax : 0120-052-806

製造元・国内問合せ先

株式会社 同仁化学研究所

熊本県上益城郡益城町田原 2025-5

お問い合わせ

技術的なお困りごとや、ご相談・ご要望などお気軽にご相談ください。



取扱店