

Emerald Lucリポーターアッセイシステム *in vitro* 発光試薬 / 細胞溶解剤

Emerald Luc

Luciferase Assay Reagent / Lysis Solution

NEW

ヒカリコメツキムシ由来ルシフェラーゼのリポーターアッセイシステムの登場です

発売キャンペーン!

アッセイ試薬購入の方にプロモーター挿入用ベクター (pELuc-test) を無償でご提供いたします (期間 ~2007年9月28日ご注文分)

Emerald Lucシステムは、ブラジル産ヒカリコメツキムシに由来するルシフェラーゼを採用した高感度なリポーターアッセイシステムです。本システムで使用されているブラジル産ヒカリコメツキムシ由来ルシフェラーゼは従来のホタルルシフェラーゼに比べ *in vitro* アッセイにおいて、安定で、強い発光シグナルを観察することができます。

新発売のEmerald Luc Luciferase Assay Reagent / Lysis Solutionを用いることで、**高感度検出やハイスループット性を必要とするリポーターアッセイが可能になりました。**

また、本システムは、時系列変動の解析、イメージングなど、生細胞を直接用いるリポーターアッセイにも応用可能です。



図1. Assay Reagent (左:1,000回用)と Lysis Solution (右)

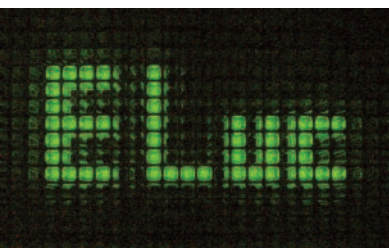
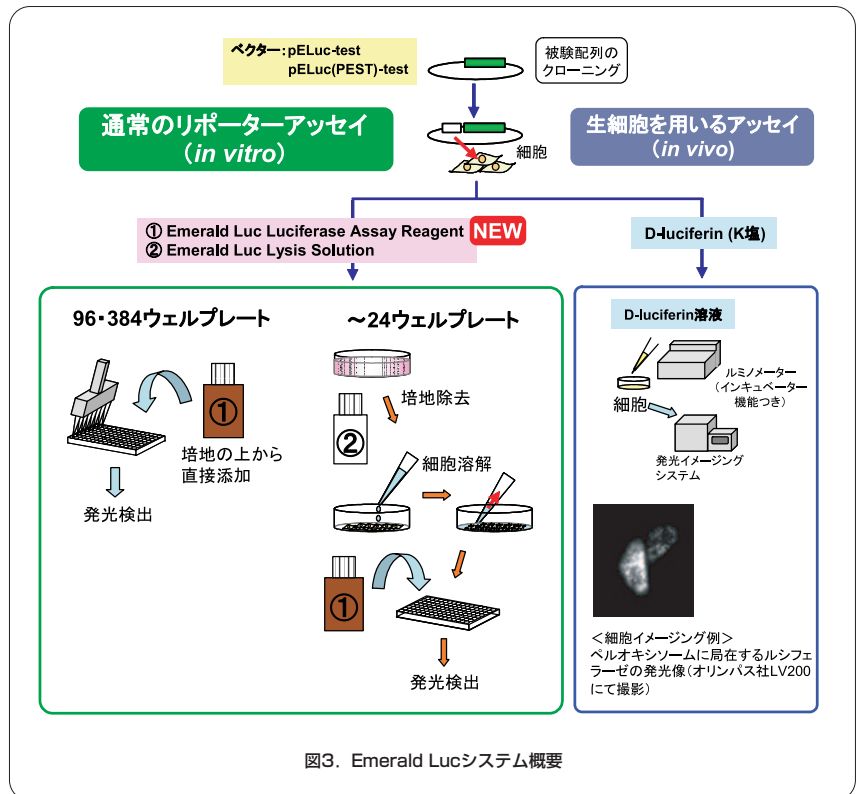


図2. 384穴プレートでの発光例



特長1 高シグナル・長持続性の発光

・ホタルルシフェラーゼと比べ、Emerald Lucルシフェラーゼは *in vitro* 測定において約3倍の発光強度を示し、高感度な測定が可能です。また、高い発光安定性を示しますのでHTSアッセイに最適です。

特長2 ハイスループット解析に最適

・Emerald Luc Luciferase Assay Reagentは溶解剤成分を含むため、細胞溶解・発光反応を1ステップで行うことができます。培養した細胞にそのまま培地と等量のEmerald Luc Luciferase Assay Reagentを添加してインキュベートするだけで測定が可能です(図3)。

・96ウェルプレート、384ウェルプレートなど小スケールの細胞サンプルからの検出に最適です。

特長3 様々な解析に対応

・サンプルの一部を使って測定を行う場合には、Emerald Luc Lysis Solutionによって細胞溶解するステップを加えることができます。35mm以上のディッシュや24ウェル以下のマルチウェルプレートなど、培養スケールの大きな細胞サンプルからの検出に最適です(図3)。

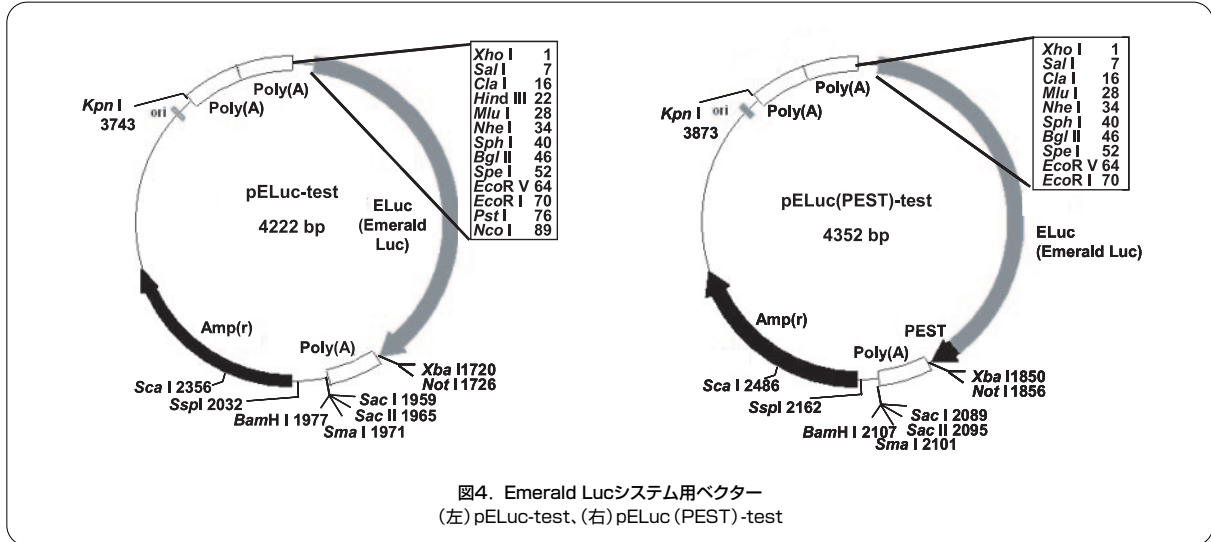


図4. Emerald Lucシステム用ベクター
(左) pELuc-test、(右) pELuc(PEST)-test

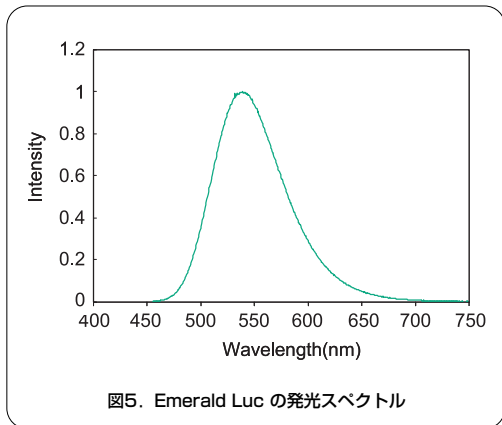
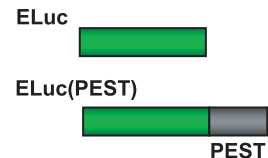


図5. Emerald Luc の発光スペクトル

一口メモ

Emerald Lucシステムのプロモーター挿入用ベクターとしてpELuc-test、pELuc(PEST)-testを販売しております。Emerald Luc(ELuc)は細胞内で非常に安定なルシフェラーゼです。ELuc(PEST)はルシフェラーゼの細胞内寿命を短くするために、ルシフェラーゼのC末端にPEST配列と呼ばれるタンパク質分解促進配列を付加しております。シグナル強度の高い検出を行うにはpELuc-testを、時計遺伝子のリズム解析などの動的な変動の検出にはpELuc(PEST)-testのご利用をお勧めします。詳細はUpload vol.85 p1,2または弊社ウェブサイトをご覧ください。



*Emerald Luc遺伝子について、特許出願中。

実施例1 ホタルルシフェラーゼとのin vitro検出における発光性能比較

SV40プロモーターの下流にELucおよびFLuc(ホタルルシフェラーゼ)を連結し、HeLa S3細胞にトランスフェクションしました。ELuc導入細胞にはEmerald Luc Luciferase Assay Reagentを、FLuc導入細胞には他社ホタルルシフェラーゼ検出用試薬AまたはBを、培養液と等量加え、10分間放置しました。その後、繰り返し発光を測定し、発光の強度・推移を調べました。右図上にシグナル計測値を、下に各組み合わせで最初の計測値を100としてプロットしました。

この結果、ELucはFLucの約3倍の発光強度を示し、安定性も非常に高い検出が可能であることがわかりました。

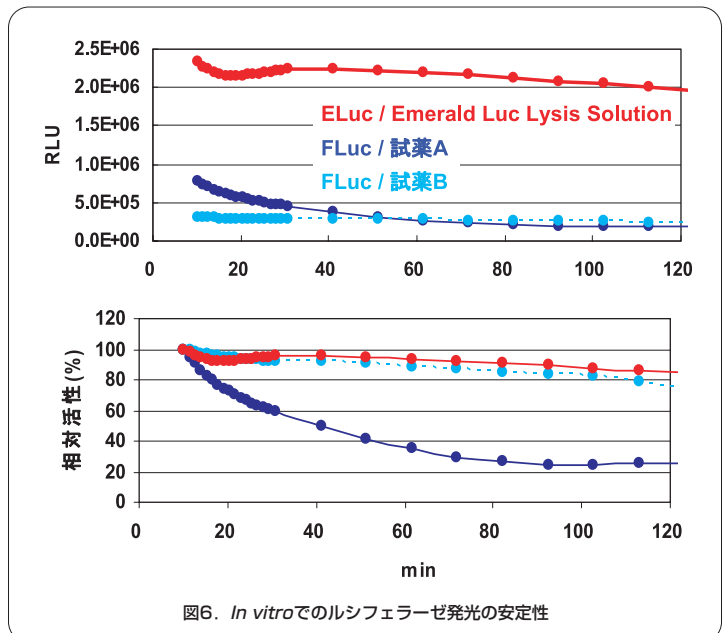


図6. In vitroでのルシフェラーゼ発光の安定性

実施例2 AP1 応答及び阻害剤効果の検出

転写因子AP1は、プロテインキナーゼCの活性化を介して活性化される転写因子です。

Emerald Lucベクター (pELuc-test, Code No.: ELV-101) 及びホタルルシフェラーゼベクターの各ルシフェラーゼ遺伝子上流にAP1 結合配列、HSVtkプロモーターを挿入したコンストラクトを構築し、96ウェルプレートに播種したHeLa S3細胞にトランスフェクションしました。この細胞を、チロシンキナーゼ阻害剤AG555、AG825、AG1478、プロテインキナーゼC阻害剤Bisindolylmaleimide I (BDM)、Ro-32-0432 (5 μ M) と1.5時間インキュベートしました。その後、Phorbol 12-Myristate 13-Acetate (PMA) 0.1 μ Mを加え、5時間インキュベートしました。

インキュベート後、Emerald Luc Luciferase Assay Reagent、またはホタルルシフェラーゼ検出用試薬を培地と等量加え、ルシフェラーゼ活性を測定しました。各実験条件をn=3で実施し、平均値を下図グラフにプロットしました。

その結果、Emerald Lucシステムはホタルルシフェラーゼ系に比べシグナルが強く、さらに、n=3でのCVの平均がホタルルシフェラーゼ系では0.25であるのに対し、Emerald Luc系では0.14と低く、バラツキが小さく変動をより明確に解析することができました。本実験より、プロテインキナーゼCの阻害剤によってAP1による転写誘導が減少するという現象を、明確に捉えることができました。

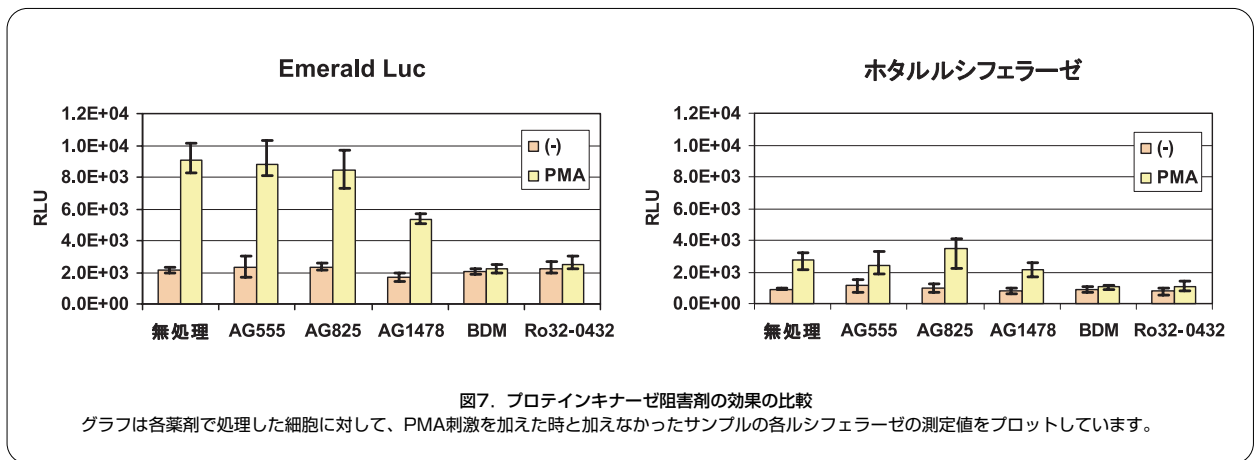


図7. プロテインキナーゼ阻害剤の効果の比較
グラフは各薬剤で処理した細胞に対して、PMA刺激を加えた時と加えなかったサンプルの各ルシフェラーゼの測定値をプロットしています。

品名	包装	保存温度	Code No.	価格
Emerald Lucシステム破壊系発光試薬 Emerald Luc Luciferase Assay Reagent*	10ml	-80℃	ELA-101	¥14,000
	100ml		ELA-102	¥78,000
Emerald Lucシステム細胞溶解剤 Emerald Luc Lysis Solution**	100ml	-20℃	ELA-201	¥8,000
Emerald Lucプロモーター挿入用ベクター pELuc-test***	10 μ g	-20℃	ELV-101	¥35,000
Emerald Luc-Short lifeタイプ-プロモーター挿入用ベクター pELuc (PEST) -test***	10 μ g	-20℃	ELV-201	¥35,000

*96ウェルプレートの場合、Emerald Luc Luciferase Assay Reagent 10mlは100反応、100mlは1,000反応に相当します。

**Emerald Luc Lysis Solutionは希釈の必要がなく、そのままご使用いただけます。

***ヒカリコメツキムシ由来ルシフェラーゼ遺伝子を含むベクターは、弊社にて特許出願した技術です。当ベクター (Emerald Luc Vector Code No.; ELV-101, ELV-201) の使用において、弊社の検出用試薬 (Emerald Luc Luciferase Assay Reagent Code No.; ELA-101, ELA-102, ELA-201, D-Luciferin Code No.; MRL-101, MRL-102) を用いる場合は、営利・非営利団体に関らず、ライセンス契約は必要ございません。営利団体で弊社の検出用試薬を用いない場合は、ライセンス契約が必要となります。製品にライセンスポリシーが添付されておりますので、開封前に必ずご確認ください。ご不明な点は弊社までお問い合わせください。

関連商品

品名	包装	保存温度	Code No.	価格
D-luciferin (カリウム塩)	20mg	-20℃	MRL-101	¥24,000
	100mg		MRL-102	¥92,000