

マルチリポーターアッセイ用1液アッセイ試薬

Tripluc[®] Luciferase Assay Reagent



Tripluc[®]システム専用の1液タイプのマルチリポーターアッセイ用試薬の登場です。

MultiReporter Assay System -Tripluc[®] (以下Tripluc[®]システム)は、緑色 (SLG)、橙色 (SLO)、赤色 (SLR) の3色のルシフェラーゼを用いるマルチリポーターアッセイシステムです。1色を内部標準として、残りの2色を用いて、2種の被験配列 (プロモーターなど) の転写活性の評価を同時に行うことができます。このアッセイ系を用いることにより、2種の被験配列の活性に関する厳密な比較が可能になります。

本試薬は、Tripluc[®]システムのルシフェラーゼアッセイ用に最適化された1液タイプの発光試薬です。従来の2液タイプに比べ、迅速簡便にレポーターアッセイを行うことができます。



図1. キット外観

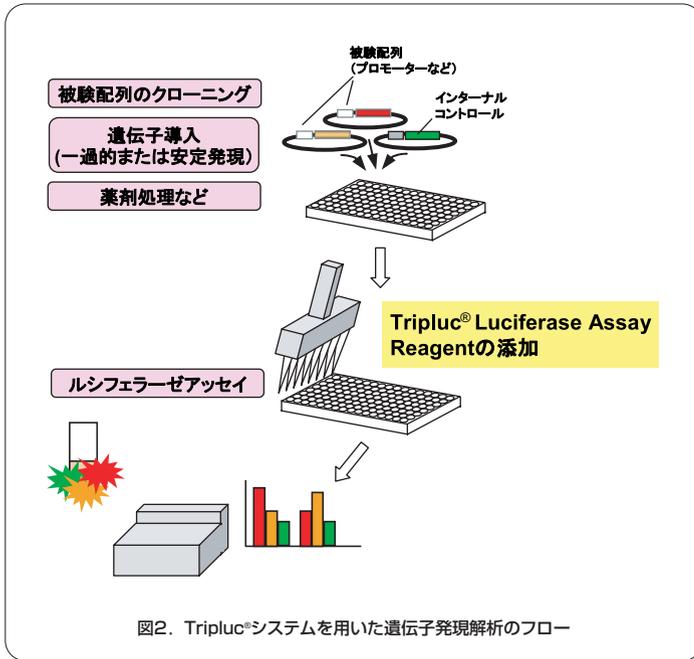


図2. Tripluc[®]システムを用いた遺伝子発現解析のフロー

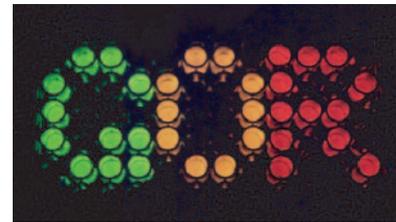


図3. SLG, SLO, SLRの発光

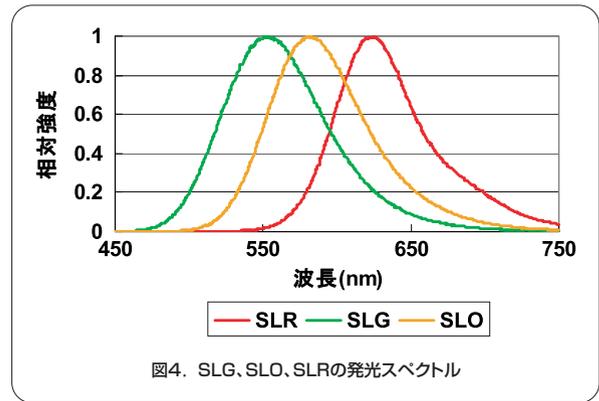


図4. SLG, SLO, SLRの発光スペクトル

特長1 1ステップアッセイ

・従来の2液タイプの検出試薬では、細胞溶解と発光反応を別々に行うため、煩雑な操作が必要でした。本試薬では、培養液に試薬を添加し、10分間インキュベートするだけでアッセイが可能です。

特長2 安定した発光

・試薬組成を最適化し、安定した発光反応が可能になりました (図5)。シングルチューブでのアッセイに加え、マルチウェルプレートでのアッセイに最適です。

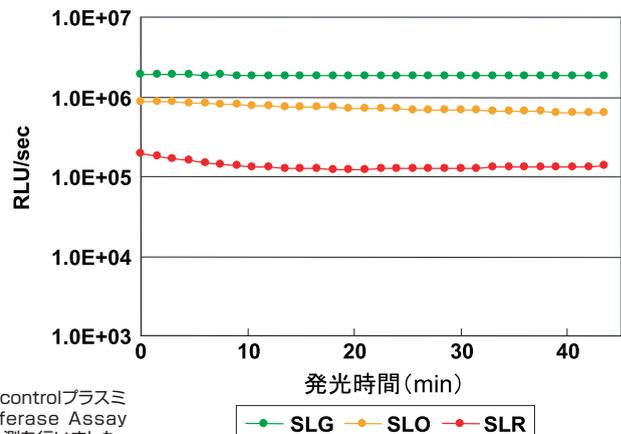


図5. SLG, SLO, SLRの発光持続性
96ウェルプレートのCHO細胞にpSLG/SLO/SLR-SV40 controlプラスミドをそれぞれトランスフェクションし、翌日Tripluc[®] Luciferase Assay Reagentを加え、10分間インキュベートし、その後リピード計測を行いました。

実施例 ▶ **Tripluc® Luciferase Assay Reagentを用いた定量性の検討**

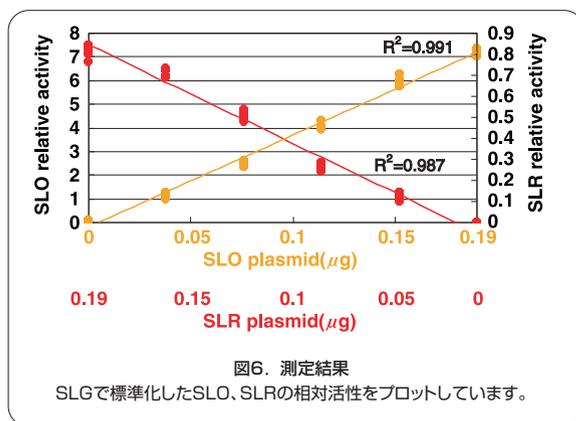
96ウェル白色不透明プレートに培養したCHO細胞に、表1に示すように様々な比率で混合した pSLG/SLO/SLR-SV40 controlプラスミド(0.2μg/ウェル)をトランスフェクションしました(n=6)。翌日、Tripluc® Luciferase Assay Reagentを加え、10分間インキュベートした後、発光をプレートリーダーARVO_{MX}(パーキンエルマー社)を用いて、①660nm±50 nm、②595±30 nm、③510±30nmの光学フィルター存在下で、それぞれ測定しました。各ルシフェラーゼの各フィルター透過率を用いて、測定値から各ルシフェラーゼの活性を算出しました。さらに、内部標準として一定量添加したSLGの活性値を用いて、SLO、SLRの活性を標準化しました。

結果を図6に示します。この結果、各ルシフェラーゼについてプラスミドの添加量に比例した活性を確認することができました。また、n=6のサンプル間でもバラツキの少ない結果を得ることができました。特に、n=6は96ウェル内の3つのcolumnに分けて配置しましたが、プレート内の位置によるバラツキは認められず、安定した測定を行うことが可能でした。

表1. プラスミド混合条件

(単位は μg/ウェル)

No.	SLG	SLO	SLR
A	0.01	0.19	—
B	0.01	0.152	0.038
C	0.01	0.114	0.076
D	0.01	0.076	0.114
E	0.01	0.038	0.152
F	0.01	—	0.19



一口メモ

Tripluc®システムに用いられる3色のルシフェラーゼ(図3、4)は、いずれもD-luciferinを発光基質としますので、3つの酵素反応を1つのステップで行います。この発光測定には、2ないし3種類のフィルターを搭載した発光測定装置を使用します。使用可能な発光測定装置は、専用のカラフルックアナライザー(チューブタイプ)のほか、パーキンエルマー社のARVO_{MX}などの光学フィルターの装着が可能なプレートリーダー(ルミノメーター)、などです。図4に示すように3色の発光は互いに重なりあっていますが、測定に使用する光学フィルターに対する各ルシフェラーゼの透過率を利用することによって、各ルシフェラーゼの発光を算出することが可能です。本システムでは3つのリポーターを使用することができますので、2つの異なった応答性や変動のタイミングなどを、より直接的に比較することが可能です。

品名および内容	包装	保存温度	Code No.	価格
MultiReporter Assay System -Tripluc®-発光試薬 Tripluc® Luciferase Assay Reagent	10ml 10ml×5	-80℃	MRA-301 MRA-301X5	¥23,000 ¥97,000

※96ウェルプレートの場合、10mlは100反応に相当します。

関連商品

品名及び内容	包装	保存温度	Code No.	価格
プロモーター挿入用ベクター pSLG-test	20 μg	-20℃	MRV-101	¥80,000
プロモーター挿入用ベクター pSLO-test	20 μg	-20℃	MRV-102	¥80,000
プロモーター挿入用ベクター pSLR-test	20 μg	-20℃	MRV-103	¥80,000
SV40コントロールベクター pSLG-SV40 control	20 μg	-20℃	MRV-201	¥80,000
SV40コントロールベクター pSLO-SV40 control	20 μg	-20℃	MRV-202	¥80,000
SV40コントロールベクター pSLR-SV40 control	20 μg	-20℃	MRV-203	¥80,000
HSVtkコントロールベクター pSLG-HSVtk control	20 μg	-20℃	MRV-301	¥80,000
プロモーター挿入用Tベクターキット SLO TA Cloning Kit	20回用	-20℃	MRT-101	¥65,000
プロモーター挿入用Tベクターキット SLR TA Cloning Kit	20回用	-20℃	MRT-102	¥65,000
プロモーター挿入用Tベクターキット(KOD用) SLO TA Cloning Kit for KOD	20回用	-20℃	MRT-201	¥69,000
プロモーター挿入用Tベクターキット(KOD用) SLR TA Cloning Kit for KOD	20回用	-20℃	MRT-202	¥69,000
色分離機能付チューブ測定用ルミノメーター カラフルックアナライザー™	1式	—	CLX-101	¥1,350,000

※ベクターに関しては別途セット販売をしております。詳しくは、弊社までお問い合わせください。

上記のカラフルックアナライザー™以外の商品につきまして、特許の関係上、ご購入の際には別途申込書を提出していただきます。企業の方のご購入に関しては、別途ライセンスが必要です。詳しくは弊社までお問い合わせください。