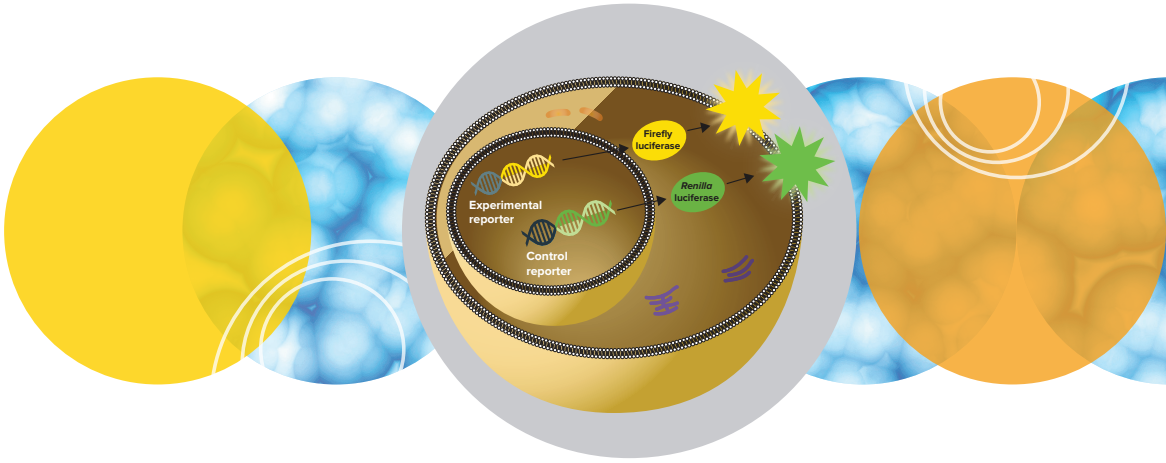

SpectraMax DuoLuc Reporter Assay Kit

マイクロプレートリーダーのためのデュアルルシフェラーゼアッセイ

主な特徴

- ホタルルシフェラーゼとウミシイタケルシフェラーゼに対する検出感度に優れたフラッシュタイプの発光アッセイ
- 1 ウェルあたりわずか 10 細胞のルシフェラーゼの発現を検出可能
- プレートリーダー、ソフトウェア、アッセイプロトコルのトータルソリューションをサポート

レポーター遺伝子アッセイは、遺伝子発現、遺伝子制御、シグナル伝達に関連する細胞内の現象をモニタリングすることができる重要なツールです。ホタルルシフェラーゼのようなレポーター遺伝子は、通常、対象とする遺伝子またはプロモーターに隣接して挿入され、その発現は対象とする遺伝子の発現に付随して増減します。ウミシイタケ（*Renilla reniformis*）に由来するルシフェラーゼは、しばしば多重ルシフェラーゼアッセイにおいて使用され、ホタルルシフェラーゼ由来のシグナルを標準化するための内部コントロールとして機能します。構成的プロモーターで発現が制御されるウミシイタケルシフェラーゼのシグナルは、細胞数およびトランスフェクション効率を反映します。

ホタルルシフェラーゼは、最もよく使用されるレポーターのひとつで、生物発光反応（酸素および ATP の存在下における D-ルシフェリンの酸化）を触媒することで光を放出します。ウミシイタケルシフェラーゼは、セレンテラジンの酸化を触媒して光を放出します。基質要求性に違いがあるため、それぞれの基質を順次添加することで、ひとつのサンプルについて両方のルシフェラーゼ活性を測定することができます。試験シグナルをコントロールシグナルで標準化できるため、このアッセイで得られる結果は信頼性が高く、細胞内シグナル伝達などに関するより詳細な情報を得ることが可能です。

モレキュラーデバイスのプレートリーダー用に最適化されたキット

SpectraMax® DuoLuc™ Reporter Assay Kit で、哺乳動物細胞におけるホタルおよびウミシイタケのルシフェラーゼの発現を高感度に定量できます。2 種類の最適化された検出試薬を順次分注することで、同一のマイクロプレートウェルにおいて両方のルシフェラーゼの活性を測定できます。まず、ホタルルシフェラーゼ基質を添加し、生じる発光を測定します。その後、ウミシイタケルシフェラーゼ基質とクエンチャー（消光剤）を添加し、ホタルルシフェラーゼによる発光を停止させた上でウミシイタケルシフェラーゼ基質の発光を測定します。このアッセイには、それぞれの試薬を順次添加できるデュアルインジェクターを備えたマイクロプレートリーダーが適しています。本キットは、デュアルインジェクターカートリッジ搭載の SpectraMax® i3x マルチモードマイクロプレートリーダーに最適化されています。また、SoftMax® Pro ソフトウェアにプリセットされているプロトコルによって、データの取得と解析が簡素化されています（図1）。

MOLECULAR DEVICES

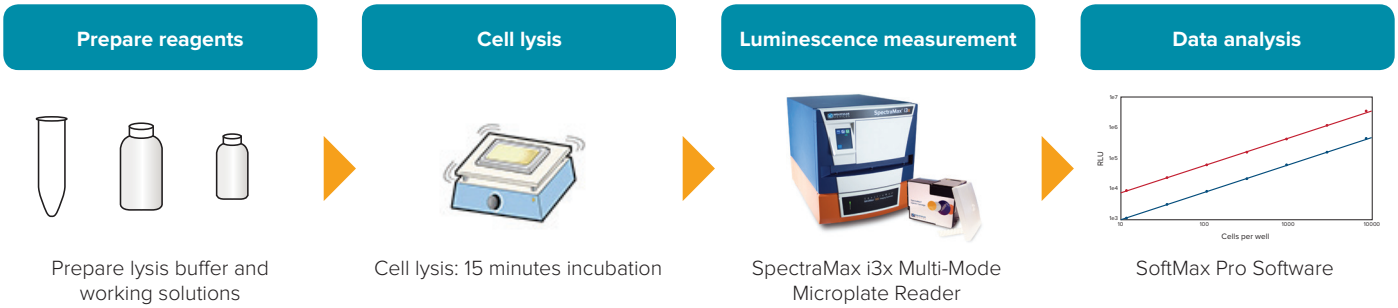

図 1. デュアルルシフェラーゼアッセイの代表的なワークフロー

マイクロプレート用に最適化されたアッセイフォーマット

DuoLuc アッセイは、SoftMax Pro ソフトウェアにプリセットされているプロトコルによって、デュアルインジェクター搭載の SpectraMax マイクロプレートリーダーで自動的に実行されます。ウェル間で一貫したデータを取得するため、1 ウェルごとに順次測定されます（図 2）。

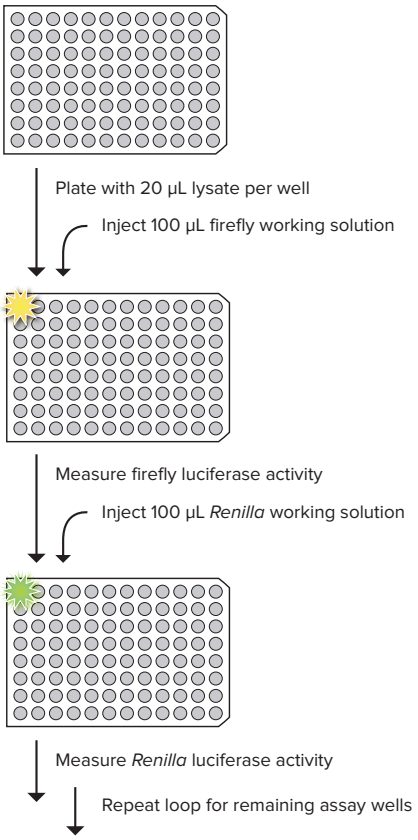

図 2. 96 ウェルマイクロプレートによるアッセイ

デュアルレポーターアッセイに最適なデータ品質

DuoLuc Assay Kit は、インジェクター搭載のマイクロプレートリーダーを用いると、幅広いダイナミックレンジと最適な感度でアッセイが可能です。精製された酵素ルシフェラーゼを使用して 6 桁以上の定量範囲（$r^2 > 0.99$）を達成しました（図 3）。このアッセイでは、1 ウェルあたりわずか 12 細胞のルシフェラーゼ活性を検出することができます（図 4）。優れた感度と幅広い定量範囲によって、様々な細胞培養条件および実験条件下におけるレポーター遺伝子の活性を正確に定量できるようになります。

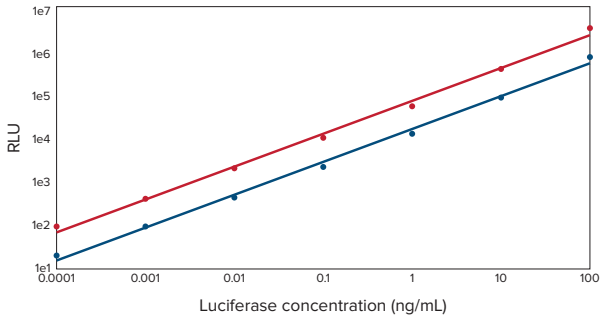

図 3. 精製された酵素ルシフェラーゼを用いたアッセイ例
ホタルルシフェラーゼ（赤色）およびウミシイタケルシフェラーゼ（青色）。SpectraMax i3x マイクロプレートリーダーおよび SpectraMax DuoLuc Reporter Assay Kit を使用して測定した。

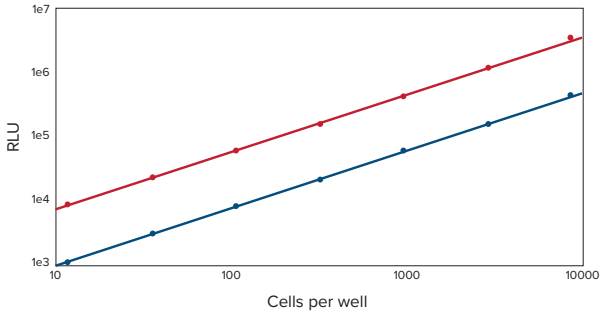

図 4. HeLa 細胞を用いたアッセイ例
ホタルルシフェラーゼ（赤色）およびウミシイタケルシフェラーゼ（青色）。SpectraMax i3x マイクロプレートリーダーおよび SpectraMax DuoLuc Reporter Assay Kit を使用して測定した。

注文情報

製品名	評価	エクスプローラー	バルク
SpectraMax DuoLuc Reporter Assay Kit*	R8360（50反応）	R8361（200反応）	R8362（1000反応）

Passive Lysis Buffer（R8363）も追加でご注文いただけます。

* モレキュラーデバイス社の対応マイクロプレートリーダー

- SpectraMax® iD3 マルチモードマイクロプレートリーダー
- SpectraMax® i3/i3x マルチモードマイクロプレートリーダー
- SpectraMax® L マルチモードマイクロプレートリーダー

Contact Us
モレキュラーデバイスジャパン株式会社

Phone: 0120-993-656
Web: www.moleculardevices.co.jp
moleculardevices.co.jp/qr/reagent_dlr02
Email: info.japan@moldev.com

製品ページはこちら

The trademarks used herein are the property of Molecular Devices, LLC or their respective owners.
Specifications subject to change without notice. Patents: www.moleculardevices.com/patents
FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES.

©2017 Molecular Devices Japan KK
6/17 TDS-2069A
Printed in Japan

MOLECULAR DEVICES