

レポーターアッセイ・システム ピッカジーン® ピッカジーン® LTシリーズ ピッカジーン® デュアル マルチカラールック®

★レポーターアッセイ用 発光試薬

品名	ルシフェラーゼ	発光半減期	操作性	特長	掲載頁
ピッカジーン® BrilliantStar-LT	北米産ホタル	30分	1ステップ (溶解・発光混合液)	HTS対応 (高感度タイプ)	2-3
ピッカジーン® MelioraStar-LT		90分	1ステップ (溶解・発光混合液)	HTS対応	2-3
ピッカジーン® LT 2.0		2時間	1ステップ (溶解・発光混合液)	Well plate 仕様	2-3
ピッカジーン® LT 7.5		7.5時間	1ステップ (溶解・発光混合液)	Well plate 仕様	2-3
ピッカジーン®		5分	2ステップ(溶解/発光)	超高感度タイプ	4
ピッカジーン® デュアル	北米産ホタル ウミシイタケ	北米産ホタル (約15分) ウミシイタケ (約2分)	2ステップ (溶解発光/消光・発光)	インターナルコント ロールを同封	4
マルチカラールック®	赤色 : 鉄道虫 緑色 : イリオモテボタル オレンジ色:イリオモテボタル (変異体)	各2時間	1ステップ (溶解・発光混合液)	3因子同時測定 (2因子測定+イン ターナルコントロールで 同時測定) HTS対応	5-8

★レポーターアッセイ用 ベクター

品名	特長	掲載頁
ピッカジーン® ベクター	ルシフェラーゼ遺伝子 (<i>luc</i>)を含む4種類(コントロール、エンハンサー、プロモーター、ベージック)のベクターで構成されており、用途に応じてご選択下さい。多種の生物由来の細胞に適用。	5
ピッカジーン® ベクター-2	ピッカジーン® ベクターの10~100倍の高発現用に改変したベクターです。新規ルシフェラーゼ遺伝子 (<i>luc+</i>)を採用し、最適な動物細胞用にコドンを変化した4種類のベクターで構成されています。	5
マルチカラールック® レポーターベクター	3色の色識別可能なルシフェラーゼ遺伝子を含むコントロールベクターとテストベクターの5種類で構成されています。一過性の発現測定 (<i>in vitro</i>) やリズム解析 (<i>in vivo</i>) などにもご使用可能です。	7-8

ピッカジーン® LTシリーズ

～ HTS対応 ～

製品概要

弊社が開発したピッカジーン®はホタルルシフェラーゼをレポーターとしたシステムで、多くの研究者の皆様にご愛用頂いております。そのピッカジーン®をさらに多検体測定向けに、発光半減期の時間を伸ばす(Long-Term化)ように改良したHTS対応のピッカジーン® LTシリーズの発売により、384well plate測定などの多検体のスクリーニングが可能となりました。従来からの LT2.0、LT7.0に 加えて、発光量、操作性などを高めた BrillianStar-LT、MelioraStar-LTもラインナップに加わっています。

Star-LTシリーズの特長

- ・高感度 : 高い発光強度
- ・安定性 : 安定した発光Kinetics
- ・簡便 : 細胞溶解剤入りの1液型です。操作が試薬添加の1ステップのみ。(攪拌不要)
- ・迅速 : 試薬添加後最短5分で測定開始。
- ・広い適応性 : 血清、培地(RPMI1640、DMEM、MEM α 、F12)、フェノールレッド、有機溶媒、PBSなどによる半減期の影響は受けない。
- ・操作性の向上 : 従来の試薬に比べ低粘性、新規採用の消泡剤により実験上の起泡を低減。
- ・実験環境の改善 : 特有の硫黄臭を大幅に低減し快適性を向上。

LT (Long Term) シリーズ 半減期と発光量の比較

LT製品	BrillianStar-LT	MelioraStar-LT	LT2.0	LT7.5
発光半減期	30分	90分	2時間	7.5時間
発光量	◎ ◎	◎	○	○
不快臭	低減	低減	有	有

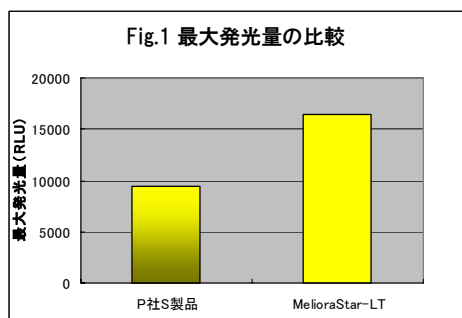


Fig.1 MelioraStar-LT(PG MLT)とP社S製品の最大発光量の比較

発光が安定し測定可能となる試薬添加後5分の発光量は弊社PG MLTが、P社S製品より約2倍発光強度(感度)が高い事を示す。NIH3T3のルシフェラーゼ恒常的発現細胞/DMEM (25,000cells/well)を一晩培養後、各well 100 μ lに対してPG MLT100 μ lを添加後測定。

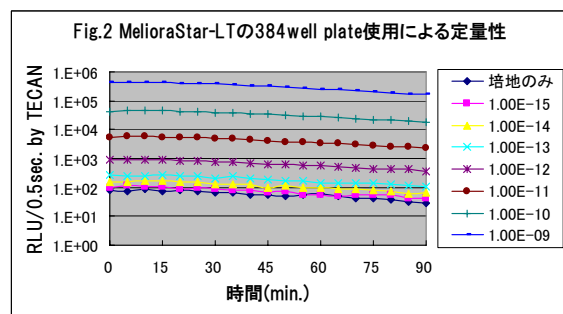


Fig.2 MelioraStar-LT(PG MLT)の384well plate使用による定量性
ルシフェラーゼ濃度比と発光量が90分まで均一に相関が得られている事を示す。384well plateで、精製ホタルルシフェラーゼの10倍希釈系列(1.64.E-9M~15M/RPMI-1640 with 1mg/ml BSA)を調製し、各well30 μ lに対して、PG MLT 30 μ lを添加後測定。

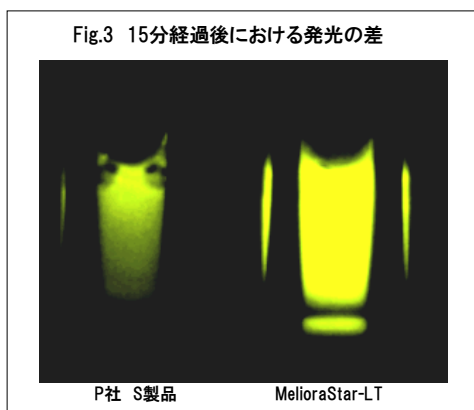


Fig.3 MelioraStar-LT(PG MLT)とP社S製品の発光の比較
試薬添加15分経過後CCDカメラにてセル側面から発光を観察。PGMLTは発光の強度が強いことに加えて、攪拌しなくても溶存酸素の影響を受けないため、発光が均一であることが観察される。一方P社S製品は、既にセルの底面から消光していることが確認できる。側面の発光はキューベットの映りこみである。撮影:パルトールド社 NightOWL981 NC100

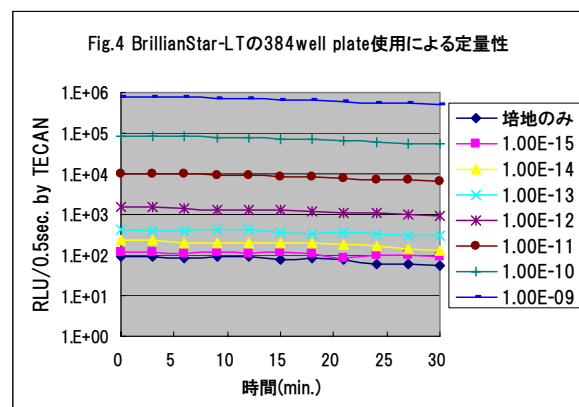


Fig.4 BrillianStar-LT(PG BLT)の384well plate使用による定量性
ルシフェラーゼ濃度比と発光量が30分まで均一に相関が得られている事を示す。384well plateで、精製ホタルルシフェラーゼの10倍希釈系列(1.64.E-9M~15M/RPMI-1640 with 1mg/ml BSA)を調製し、各well30 μ lに対して、PG BLT 30 μ lを添加後測定。

LTシリーズ ~HTS用~ 発光試薬一覧

コードNo.	メーカーコード	品名	半減期	容量	保存	希望納入価格(円)
301-15371	BLT10	ピッカジーン® BrilliantStar-LT 発光試薬	100回用	発光試薬 10ml × 1本	-80°C	13,000
307-15373	BLT100		1000回用	発光試薬 50ml × 2本		77,000
305-15374	BLT1000		10000回用	発光試薬 50ml × 20本		587,500
308-16001	MLT10	ピッカジーン® MelioraStar-LT 発光試薬	100回用	発光試薬 10ml × 1本	-80°C	14,000
304-16003	MLT100		1000回用	発光試薬 50ml × 2本		80,000
302-16004	MLT1000		10000回用	発光試薬 50ml × 20本		587,500
306-16161	PLT21	ピッカジーン® LT2.0 発光試薬	100回用	発光試薬 10ml × 1本	-80°C	14,000
302-16163	PLT25		500回用	発光試薬 50ml × 1本		50,000
300-16164	PLT210		1000回用	発光試薬 50ml × 2本		80,000
303-16171	PLT71	ピッカジーン® LT7.5 発光試薬	100回用	発光試薬 10ml × 1本	-80°C	14,000
309-16173	PLT75		500回用	発光試薬 50ml × 1本		50,000
307-16174	PLT710		1000回用	発光試薬 50ml × 2本		80,000

(発光モニター用) ホタルルシフェラーゼ酵素セット

製品概要)

ルシフェラーゼアッセイを行う際、アッセイ系の構築及び発光試薬の活性を確認することが重要です。同セットはピッカジーンLTシリーズの発光反応モニター用に最適な製品です。ホタル(*Photinus pyralis*)由来の組み換えルシフェラーゼとその専用希釈液を組み合わせた製品構成となっています。ルミノメーターによる発光量の直線性の上限の確認や発光試薬の活性の確認に最適です。

コード No.	メーカーコード	品名	容量	保存	希望納入価格(円)
303-16671	FL-50	ホタルルシフェラーゼ 酵素セット	ホタルルシフェラーゼ酵素 (凍結品) 10 µg/ml (1.64 × 10 ⁻¹⁰ mol/ml) 50 µl × 1本	-80°C	10,000
			希釈液 (凍結品) 30ml × 1本	-20°C	

ピッカジーン®

～超高感度～

製品概要

ピッカジーン®は、ホタルルシフェラーゼ酵素の活性(発光)を超高感度、迅速、簡便に測定するシステムです。試薬組成を工夫することにより、発光の急速な減衰をなくし、数分間にわたる安定した強い発光を実現しました。この弊社独自のテクノロジーは、ピッカジーン®BrilliantStar-LT、MelioraStar-LT、マルチカラールク®などの測定試薬の開発にも活かされています。

特長

- 超高感度 : CATアッセイの100倍以上、従来法の10倍以上の発光強度。(10⁻²⁰ molesの酵素量まで測定できます。)
- 迅速 : 細胞溶解から測定までわずか10数分で終了。
- 簡便 : 溶解した検体に発光試薬を加え、直ぐに測定できます。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	保存	希望納入価格(円)	
302-04311	PGL100	ピッカジーン® 発光キット	100回用	・発光基質(凍結乾燥品)7mg×1本 ・緩衝液 10ml×1本	-20℃	10,000
309-04321	PGL1500		100回用×5	・発光基質(凍結乾燥品)7mg×5本 ・緩衝液 10ml×5本	-20℃	45,000
306-04331	PGL5500		500回用	・調製済み発光基質 50ml×1	-80℃	45,000
303-04341	PGL2000		500回用×4	・調製済み発光基質 50ml×4本	-80℃	165,000

ピッカジーン® デュアル シーパンジー発光キット

製品概要

ピッカジーンデュアル®は、インターナルコントロールの測定操作を簡便・迅速に行えるよう最適化されています。インターナルコントロールにはシーパンジー(ウミシイタケ)ルシフェラーゼを使用します。各発光反応は1本のキュベットもしくは1well中で続けて測定できます。ホタルルシフェラーゼ・ベクターとシーパンジールシフェラーゼ・(インターナルコントロール)ベクターとをコトランスフェクションし、それぞれの発光量を測定することから、ホタルルシフェラーゼによるシグナルは、シーパンジールシフェラーゼによるシグナルで補正できます。このシステムは、それぞれの発光試薬とシーパンジールシフェラーゼ遺伝子を含みプロモーターの異なる4種類のベクターから構成されています。

特長

- 高感度: 従来のインターナルコントロール(β-Gal, CAT)に比べて高感度。
- 迅速: 2種類のアッセイ系を1回当たり約30秒で測定が可能。
- 正確: 7桁のレンジで直線性が得られます。

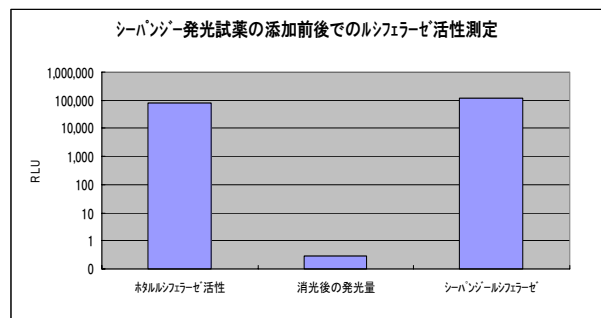


Fig. CHO細胞にPGV-C2, pRL-SV40をコトランスフェクションし、各発光試薬を添加し、発光量を測定した。
PGV-C2 : ピッカジーンコントロールベクター2

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	保存	希望納入価格(円)	
307-05581	PGD-S	ピッカジーン デュアル シーパンジー 発光キット	100回用	・ピッカジーン発光試薬Ⅱ緩衝液10ml ・ピッカジーン発光基質(凍結乾燥)1本 ・シーパンジー発光試薬緩衝液10ml ・シーパンジー発光基質(凍結乾燥)1本 ・シーパンジー発光基質溶解液250μl ・シーパンジー用細胞溶解剤30ml ・ルシフェラーゼスタンダード酵素50μl	-20℃	25,000
301-05584	PD11		100回用×10	・ピッカジーン発光試薬Ⅱ緩衝液10ml×10 ・ピッカジーン発光基質(凍結乾燥)10本 ・シーパンジー発光試薬緩衝液10ml×10 ・シーパンジー発光基質(凍結乾燥)10本 ・シーパンジー発光基質溶解液250μl ・シーパンジー用細胞溶解剤30ml ・ルシフェラーゼスタンダード酵素50μl	-20℃	198,000
303-05583	PD10		1000回用	・ピッカジーン発光試薬Ⅱ緩衝液105ml ・ピッカジーン発光基質(凍結乾燥)1本 ・シーパンジー発光試薬緩衝液105ml ・シーパンジー発光基質(凍結乾燥)1本 ・シーパンジー発光基質溶解液2.5ml ・シーパンジー用細胞溶解剤30ml ・シーパンジー用発光試薬ボトル 1本 ・ルシフェラーゼスタンダード酵素50μl	-20℃	187,000
305-06001	PLD-30	5倍濃 シーパンジー用 細胞溶解剤	30ml	1本	-20℃	9,000

ピッカジーン®ベクター

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	保存	希望納入価格(円)		
309-02861	PGV-CS	ピッカジーン®カセットベクター	20 µg/20 µl	-80°C	11,000		
302-02851	PGV-B	ピッカジーン®ベーシックベクター					
301-02821	PGV-C	ピッカジーン®コントロールベクター					
305-02841	PGV-P	ピッカジーン®プロモーターベクター					
308-02831	PGV-E	ピッカジーン®エンハンサーベクター					
302-04811	PGV-CS2	ピッカジーン®カセットベクター2			2 µg	-20°C	9,000
309-04821	PGV-C2	ピッカジーン®コントロールベクター2					
306-04831	PGV-B2	ピッカジーン®ベーシックベクター2					
303-04841	PGV-P2	ピッカジーン®プロモーターベクター2					
300-04851	PGV-E2	ピッカジーン®エンハンサーベクター2					
307-05601	pRL-SV40	シーパンジーSV40コントロールベクター					
304-05611	pRL-CMV	シーパンジーCMVコントロールベクター					
301-05621	pRL-TK	シーパンジーTKコントロールベクター					
308-05631	pRL-null	シーパンジーnullコントロールベクター					

ピッカジーン® 細胞溶解剤

製品概要)

本製品はベクターをトランスフェクションした培養細胞から、発現させた酵素を抽出するために最適化された試薬です。ルシフェラーゼによるレポーターアッセイ用に最適化した【ピッカジーン®培養細胞溶解剤 Luc】とルシフェラーゼアッセイに加えてβ-galactosidase, chloramphenicol acetyltransferase(CAT)アッセイやたんぱく質の定量(Bradford法)も可能な【ピッカジーン培養細胞溶解剤 LUβ】の2タイプをご用意しております。

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	保存	希望納入価格(円)	
300-04351	PGC-50	ピッカジーン培養細胞溶解剤 Luc	(ルシフェラーゼアッセイ専用)	30ml	-20°C	6,000
307-04361	PGC-51	ピッカジーン培養細胞溶解剤 LUβ	(β-gal, CAT,ルシフェラーゼアッセイ用、タンパク定量用)	30ml	-20°C	6,000

マルチカラーLuc[®]レポーターアッセイシステム ~ HTS対応 ~

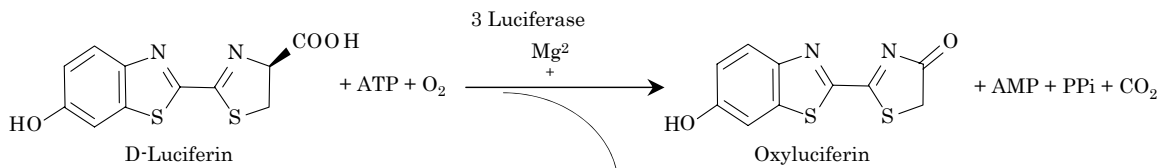
製品概要)

MultiColor-Luc[®] Reporter Assay Systemは、同一検体において複数の転写活性を同時測定できる新しいシステムです。同システムは、甲虫由来の赤、緑、オレンジの3種のルシフェラーゼ遺伝子をレポーターに使用します。この3種はpH非感受型ルシフェラーゼであり、さらに発光基質がD-Luciferinと共通です。この特性を利用し、1種類の発光試薬で、3種使用の場合は、赤、緑、オレンジの3色の混合発光が、2種の場合は2色の混合発光が安定して得られます。分光フィルターなどによる色識別可能なルミネーターやCCDカメラ装置で測定すると、混合光から単色光量が算出できます。これにより最大3因子の転写活性が同時に測定できます。発光試薬は細胞溶解剤と一緒にした1液タイプですので、single測定に加えて多検体測定用のHTS測定にも対応しています。

システムの特長)

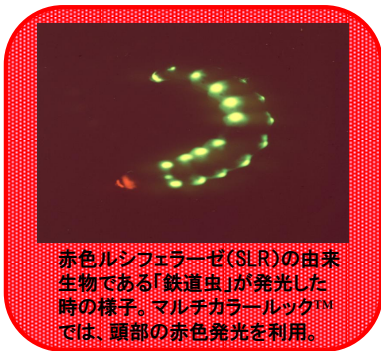
同一検体での同時測定により、因子相関性の実証が可能に

- 複数種のレポーターアッセイを同時測定
- 複数の転写因子を同時刺激しての同時測定
- 3色発光により2因子+コントロール補正で正確性アップ
- 高感度でHTS対応の細胞溶解剤入り1液型発光試薬



赤色ルシフェラーゼベクター(SLR)、オレンジ色ルシフェラーゼベクター(SLO)、緑色ルシフェラーゼベクター(SLG)の発光基質は、共通のD-ルシフェリンである。

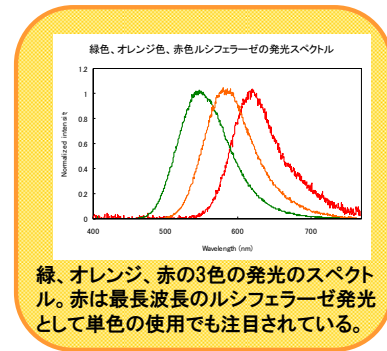
Red light (λ max= 630 nm)
Orange light (λ max= 580 nm)
Green light (λ max= 550 nm)



赤色ルシフェラーゼ(SLR)の由来生物である「鉄道虫」が発光した時の様子。マルチカラーLucTMでは、頭部の赤色発光を利用。



赤、オレンジ、緑の3色のルシフェラーゼ発光を、発光基質を過剰に添加して可視化した時の様子。



緑、オレンジ、赤の3色の発光のスペクトル。赤は最長波長のルシフェラーゼ発光として単色の使用でも注目されている。

マルチカラーLuc レポーターベクター)

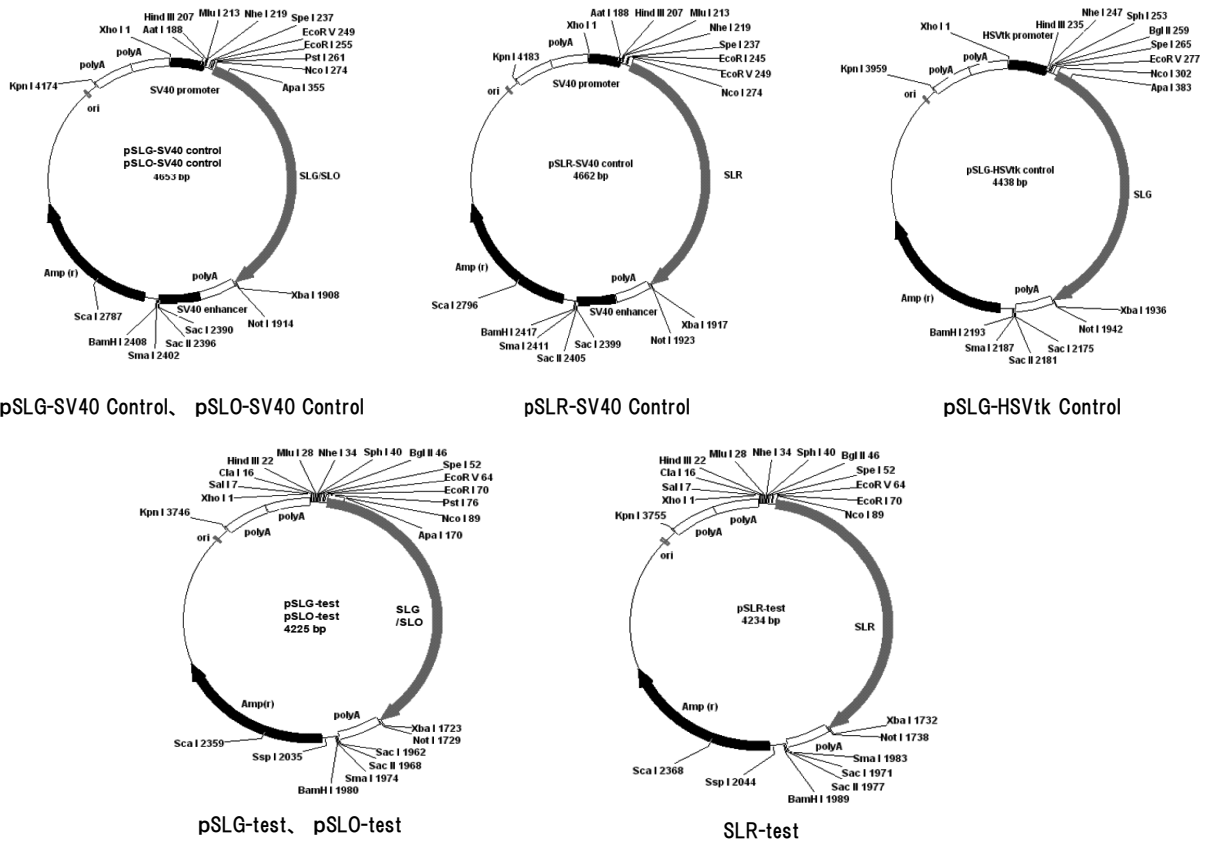
「MultiColor-Luc[®] Reporter Vector」シリーズで発現される3種のルシフェラーゼは、pH非感受型ルシフェラーゼです。このため発光スペクトルが安定しており、分光フィルターでの色識別が可能で、一過性の発現測定やリズム解析などの*in vivo* assayにご使用の場合は、測定感度を上げるため、PESTやAREなどの配列付加により半減期を短縮させてからのご使用をお勧めします。各種ルシフェラーゼ遺伝子に対してマルチクロニングサイトを含むテストベクター、SV40プロモーターが挿入されたコントロールベクターと、HSVtkプロモーターを挿入したコントロールベクター(緑用のみ)の計7種類をご用意しております。ベクターに関する詳細は、和光純薬工業株式会社のホームページに掲載しております。

ベクターの特長)

- 発光スペクトルを安定化: pH非感受型ルシフェラーゼを発現
- バックグラウンド低減配列: ルシフェラーゼ遺伝子の上流にSV40 early polyAのタンデム配列を配置
- 哺乳類細胞での発現を最適化: アミノ酸配列は変えずに哺乳類のコドンユースに最適化し、発現効率を向上

ベクターセレクション: 推奨パターン

実験系	インターナルコントロール	レポーター1因子	レポーター2因子
1因子測定	(No.300-16321) MultiColor-Luc [®] pSLR-SV40 Control Vector	(No.309-16271) MultiColor-Luc [®] pSLG-test Vector	
2因子測定	(No.300-16321) MultiColor-Luc [®] pSLR-SV40 Control Vector	(No.309-16271) MultiColor-Luc [®] pSLG-test Vector	(No.306-16281) MultiColor-Luc [®] pSLO-test Vector

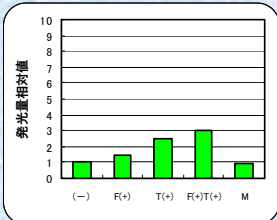


マルチカラーラック®による 2因子+インターナルコントロールの測定例と、デュアルとの比較

デュアル・システムによる測定結果

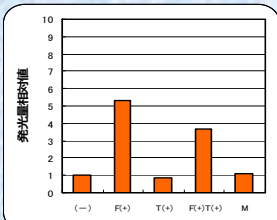
① NFκB 誘導

NFκB + TK + ホタルシフェラーゼ / SV40 + レニラ



② CRE 誘導

CRE + TK + ホタルシフェラーゼ / SV40 + レニラ

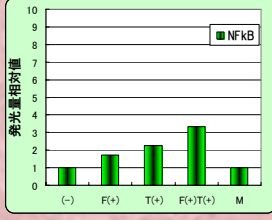


インターナルコントロール: SV40 + レニラ

マルチカラーラック®による測定結果

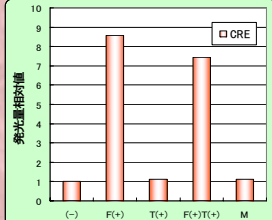
③ NFκB 誘導

NFκB + TK + 緑色シフェラーゼ / SV40 + 赤色シフェラーゼ



④ CRE 誘導

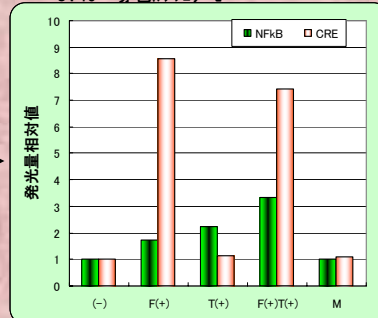
CRE + TK + オレンジ色シフェラーゼ / SV40 + 赤色シフェラーゼ



インターナルコントロール: SV40 + 赤色シフェラーゼ

⑤ NFκB 誘導 + CRE 誘導

NFκB + TK + 緑色シフェラーゼ / CRE + TK + オレンジ色シフェラーゼ / SV40 + 赤色シフェラーゼ



上記の2つの誘導を個別、あるいは同時に、レポーター遺伝子の発現量を発光量で確認した。マルチカラーラック®は、2色発光(③、④)においてデュアル・システム(①、②)と同等の1因子測定ができる事を確認できた。更に3色発光(⑤)では、同一検体にて2因子同時測定ができること、さらに、この結果はデュアル・システム®(①、②)やマルチカラーラック®で個々に1因子を測定した結果(③、④)と同等であることが確認できた。これらより、2種のレポーターアッセイや2種の誘導因子の測定が、同一検体にて1回で測定できる事を実証した。

- TNF-α 添加によるcis作用性 DNA応答配列(NFκB)誘導
- フォルスコリン添加によるcAMP 応答配列(CRE)誘導

このデータはダイナミックバイオ研究プロジェクトチームの栗田博士からの提供です。

測定装置:アトー(株)ルミネッセンスMCA

- (-) : 誘導刺激なし
- F(+) : フォルスコリン添加
- T(+) : TNF-α 添加
- F(+)/T(+) : フォルスコリンとTNF-αを同時に添加
- M : 誘導因子の溶解剤(DMSO)のみを添加

- 緑色シフェラーゼ発光 : SLG
- オレンジ色シフェラーゼ発光 : SLO
- 赤色シフェラーゼ発光 : SLR

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)	
マルチカラールック® レポーターベクター シリーズ					
309-16271	MCL-V11	MultiColor-Luc® pSLG-test Vector	20 µg	80,000	
306-16281	MCL-V12	MultiColor-Luc® pSLO-test Vector	20 µg	80,000	
303-16291	MCL-V13	MultiColor-Luc® pSLR-test Vector	20 µg	80,000	
306-16301	MCL-V14	MultiColor-Luc® pSLG-SV40 Control Vector	20 µg	80,000	
303-16311	MCL-V15	MultiColor-Luc® pSLO-SV40 Control Vector	20 µg	80,000	
300-16321	MCL-V16	MultiColor-Luc® pSLR-SV40 Control Vector	20 µg	80,000	
307-16331	MCL-V17	MultiColor-Luc® pSLG-HSVtk Control Vector	20 µg	80,000	
305-16371	MCL-VS1	MultiColor-Luc® Test Vector Set (各色1本)	20 µg × 3	200,000	
302-16381	MCL-VS2	MultiColor-Luc® Control Vector Set (SV40系各色1本)	20 µg × 3	200,000	
309-16391	MCL-VS3	MultiColor-Luc® Vector Full Set (全7種 各1本)	20 µg × 7	350,000	
マルチカラールック® レポーターベクター挿入配列確認用プライマー					
304-16341	MCL-P21	MultiColor-Luc® SLGOR-F primer (フォワード、pSLG、pSLO、pSLR共通)	200 pmol	10,000	
301-16351	MCL-P22	MultiColor-Luc® SLGO-R primer (リバーズ、pSLG、pSLO共通)	200 pmol	10,000	
308-16361	MCL-P23	MultiColor-Luc® SLR-R primer (リバーズ、pSLR用)	200 pmol	10,000	
マルチカラールック® TAクローニングキット					
302-16401	MCL-C11	MultiColor-Luc® SLO TA Cloning kit	20回用	65,000	
309-16411	MCL-C12	MultiColor-Luc® SLR TA Cloning kit	20回用	65,000	
マルチカラールック® Ultra-HTS 発光試薬 (Single & 96wellplate 対応)					
302-31541	MCL- H10	マルチカラールック® Ultra-HTS 発光試薬	100回用	細胞溶解成分入り発光試薬(凍結乾燥品) buffer 10ml 各1本	24,500
308-31543	MCL- H50		500回用	細胞溶解成分入り発光試薬(凍結乾燥品) buffer 50ml 各1本	99,000
306-31544	MCL- H100		1000回用	細胞溶解成分入り発光試薬(凍結乾燥品) buffer 50ml 各2本	185,000
302-31546	MCL- H1000		10000回用	細胞溶解成分入り発光試薬(凍結乾燥品) buffer 50ml 各20本	照会

*従来の細胞溶解剤と発光試薬が別々の2液型試薬は、受注生産となりました。納期は、別途お問い合わせ下さい。

ご注意 掲載製品は研究用試薬です。研究用以外には使用しないでください。

マルチカラールックレポーターアッセイシステムの発光試薬は東洋ビーネット㈱が単独特許出願しており、購入同意書は不要です。

ベクターは、発光遺伝子を特許出願している独立行政法人 産業技術総合研究所の許諾を受けています。ベクター製品を御購入の際は事前に購入同意書の提出をお願いしております。また、産業用途を含む営利目的の使用については、別途ライセンス契約が必要となります。

ライセンスに関しては販売元の和光純薬工業㈱または東洋ビーネット㈱までお問い合わせください。

製造元 東洋ビーネット株式会社 バイオプロダクツ部

東京都中央区京橋二丁目3番13号 Tel :03-3272-1954

E-mail: bio@toyo-b-net.co.jp

URL: <http://www.toyo-b-net.co.jp>

販売元 和光純薬工業株式会社

大阪市中央区道修町三丁目1番2号 Tel :06-6203-3741(代表)

東京都中央区日本橋本町四丁目5番13号 Tel :03-3270-8571(代表)

E-mail: labchem-tec@wako-chem.co.jp

URL: <http://www.wako-chem.co.jp>

販売店