

ピッカジーン®培養細胞溶解剤 Luc (PGC-50)

取扱説明書

I. 試薬の概要	2
II. 製品構成	2
III. 使用方法	3
IV. 関連製品	4
V. 使用上の注意	4

保存温度	-20°C ※短期保存(1週間以内)の場合 室温可
使用期限	外箱に記載

I. 試薬の概要

ピッカジーン®培養細胞溶解剤 Luc「PGC-50」は、ルシフェラーゼ遺伝子をトランスフェクションした細胞からルシフェラーゼ酵素を抽出するための試薬です。細胞溶解成分の他、ルシフェラーゼ酵素を安定化させる成分が含まれています。

※ルシフェラーゼアッセイと並行して、 β -galactosidase、chloramphenicol acetyltransferase (CAT) アッセイ、Bradford タンパク質アッセイを行なう場合は、これらのアッセイに対する阻害要因を除去した「ピッカジーン培養細胞溶解剤 Lc β (PGC-51):別売」を使用して下さい。

II. 製品構成

製品名	メーカーコード	構成
ピッカジーン® 培養細胞溶解剤 Luc	PGC-50	ピッカジーン®培養細胞溶解剤 Luc (5倍濃、30ml)

Ⅲ. 使用方法

試薬の準備(用時調製)

1 倍濃
細胞溶解剤
の調製
(5 倍希釈)

- ピッカジーン®培養細胞溶解剤 Luc に 4 倍量の滅菌水を添加し、培養細胞溶解剤を 5 倍希釈します。
これを“1 倍濃細胞溶解剤”とします。

<測定プロトコル> ルシフェラーゼアッセイ(96well プレートの場合)

①	トランスフェクション	<ol style="list-style-type: none"> 北米産ホタル (<i>Photinus Pyrris</i>) ルシフェラーゼ遺伝子を含むプラスミドを細胞にトランスフェクションし、培養します。 ☞ 培養条件は、実験目的に応じて設定して下さい。 																		
②	細胞溶解	<ol style="list-style-type: none"> 培地を除去し、PBS でウェルを洗浄します。 1 倍濃細胞溶解剤 100 μl を添加し、細胞表面が溶解剤で覆われるようにプレートを数回まわします。 ☞ 細胞溶解剤の添加量は、細胞表面が完全に覆われる必要最小量として設定しています。使用プレートの違いにより、細胞表面が完全に覆われない場合は、細胞溶解剤の液量を増やして下さい。 各プレートにおける細胞溶解剤の使用量の目安(1well あたり) <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>プレートサイズ</th> <th>溶解剤 (μl)</th> <th>PBS (ml)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>96well プレート</td> <td>25</td> <td>0.1</td> </tr> <tr> <td>48well プレート</td> <td>65</td> <td>0.3</td> </tr> <tr> <td>24well プレート</td> <td>100</td> <td>0.5</td> </tr> <tr> <td>12well プレート</td> <td>200</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>6well プレート</td> <td>500</td> <td>2</td> </tr> </tbody> </table> <ol style="list-style-type: none"> 室温で 15 分間、ゆっくり攪拌します。 ☞ 細胞種により溶解の程度が異なります。使用する細胞種に合わせて、30 分以内で溶解時間を最適化して下さい。 ライセート(4.の溶液)を 1.5ml チューブに移し、氷上に置きます。 12,000 \times g で 15 分間、遠心分離します(4°C)。 上清を新しいチューブに移し、氷上に置きます。 ☞ サンプル回収後は、直ちに発光測定を行うことを推奨します。 ☞ やむを得ずサンプルを保存する場合は、凍結融解を繰り返さないよう小分けにして-80°Cで保存し、1 週間以内に測定を行って下さい。 	プレートサイズ	溶解剤 (μ l)	PBS (ml)	96well プレート	25	0.1	48well プレート	65	0.3	24well プレート	100	0.5	12well プレート	200	1	6well プレート	500	2
プレートサイズ	溶解剤 (μ l)	PBS (ml)																		
96well プレート	25	0.1																		
48well プレート	65	0.3																		
24well プレート	100	0.5																		
12well プレート	200	1																		
6well プレート	500	2																		
③	発光測定	<ol style="list-style-type: none"> 別売の発光試薬(PGL100、PGL1500)を用いて、発光量を測定します。 																		

IV. 関連製品

		製品	
		ピッカジーン®発光キット	
		PGL100	PGL1500
構成 品	発光基質 (凍結乾燥品)	1本	5本
	緩衝液 (10 ml)	1本	5本
	ルシフェラーゼスタンダード酵素 (10 µg/ml、 1.64×10^{-10} mol/ml、50 µl)	1本	1本

V. 使用上の注意

- ご使用前に必ず安全データシート(SDS)をお読み下さい。
- 本製品を研究用途以外には使用しないで下さい。
- 日本国内のみで使用して下さい。
- 使用期限と保存条件を必ず守って下さい。
- 本製品を火気に近づけないで下さい。
- 本製品の廃棄は、お客様の施設の廃棄ルールに従って処分して下さい。
- 本製品に使用する他の試薬・器具・機械は、使用前に必ず各々の使用説明書をよく読み、その指示に従って調整・準備を行って下さい。
- 本製品に使用する他の試薬・器具は必ず滅菌して下さい。
- 材質によっては、試薬の付着により腐食・変色する場合があります。試薬が付着した器具・機械は蒸留水でよく洗浄して下さい。
- 試薬類を誤って飲み込んだ場合は、応急処置として水を飲ませ、直ちに医師の診断を受けて下さい。
- 手袋、保護メガネ等により適切な身体保護を施し、試薬類の身体への接触を避けて下さい。試薬類が目に入った場合や皮膚に付着した場合は、応急処置として水で洗い流し、直ちに医師の診断を受けて下さい。
- その他、不明な点がございましたら、下記問い合わせ先までご連絡ください。

問い合わせ先

東洋ビーネット株式会社
〒104-0031 東京都中央区京橋二丁目2番1号
E-mail b-net.bio@artiencegroup.com
HP: <https://artiencegroup.com>