

ピッカジーン® デュアル  
5 倍濃 細胞溶解剤  
(PLD -30)

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
使用期限	外箱に記載

## I. 試薬の概要

本試薬は、「ピッカジーン®デュアル シーパンジー発光キット(PGD-S, PD-10, PD-11)」専用の細胞溶解剤であり、自動発光を引き起こす成分を取り除いています。また、キット内の「ピッカジーン®発光試薬Ⅱ」と「シーパンジー発光試薬」の2種類を用いて、セレンテラジンの自動発光を抑えるようデザインしています。

※シーパンジールシフェラーゼの発光基質であるセレンテラジンは、低レベルではありますが、酵素なしに溶液中で自動発光する性質があります。さらに、細胞溶解に広く用いられている非イオン性界面活性剤(TritonX-100 等)により、セレンテラジンはかなりの強度をもつ自動発光を生じます。

## II. 製品構成

製品名	メーカーコード	構成
ピッカジーン®デュアル 5倍濃 細胞溶解剤	PLD-30	・ピッカジーン®デュアル 5倍濃 細胞溶解剤 (30 ml)

### Ⅲ. 使用方法

試薬の準備	
1 倍濃 細胞溶解剤 の調製 (5 倍希釈)	<p>☞ <u>用時調製することを推奨します。</u></p> <p>1. 「ピッカジーン®デュアル 5 倍濃 細胞溶解剤」に 4 倍量の滅菌水を添加し、5 倍希釈します。 これを“1 倍濃細胞溶解剤”とします。</p>

#### <測定プロトコル> デュアルルシフェラーゼアッセイ(24well プレートの場合)

①	コトランス フェクション	<p>1. 北米産ホタルルシフェラーゼ遺伝子、シーパンジールシフェラーゼ遺伝子を含むプラスミドを細胞にコトランスフェクションし、培養します。</p> <p>☞ 培養条件は、実験目的に応じて設定して下さい。</p> <p>☞ 両遺伝子の発現量を事前に確認した上で、ベクターの比率と量を最適化して下さい。</p>																		
②	細胞溶解	<p>2. 培地を除去し、PBS でウェルを洗浄します。</p> <p>3. 1 倍濃 細胞溶解剤 100 <math>\mu</math>l 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。</p> <p>☞ 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。</p> <p>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)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>プレートサイズ</th> <th>溶解剤 (<math>\mu</math>l)</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>250</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>6well プレート</td> <td>500</td> <td>2</td> </tr> </tbody> </table> <p>4. 室温で 15 分間、ゆっくり攪拌します。</p> <p>☞ 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。</p> <p>5. ライセート(4.の溶液)を 1.5ml チューブに回収します。</p> <p>☞ ライセート回収後は、直ちに発光測定を行うことを推奨します。</p> <p>☞ やむを得ずライセートを保存する場合は、凍結融解を繰り返さないよう小分けにして-80℃で保存して下さい。-20℃で保存した場合は、1 ヶ月以内に使用して下さい。</p> <p>☞ ライセート中のタンパク質量を定量する場合は、回収したライセート液を遠心分離(4℃、最大回転数、30 秒間)し、得られた上清を用いてタンパク質アッセイを行って下さい。</p>	プレートサイズ	溶解剤 ( $\mu$ 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	250	1	6well プレート	500	2
プレートサイズ	溶解剤 ( $\mu$ 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	250	1																		
6well プレート	500	2																		

## IV. 関連製品

製品名	コード No	容量
ピッカジーン®デュアル シーパンジー発光キット	PGD-S	100 回用
ピッカジーン®デュアル シーパンジー発光キット	PD-11	100 回用 × 10 本
ピッカジーン®デュアル シーパンジー発光キット	PD-10	1000 回用
シーパンジー-SV40 コントロールベクター	pRL-SV40	20 µg
シーパンジー-TK コントロールベクター	pRL-TK	20 µg
シーパンジー-CMV コントロールベクター	pRL-CMV	20 µg
シーパンジー-null コントロールベクター	pRL-null	20 µg

## 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>