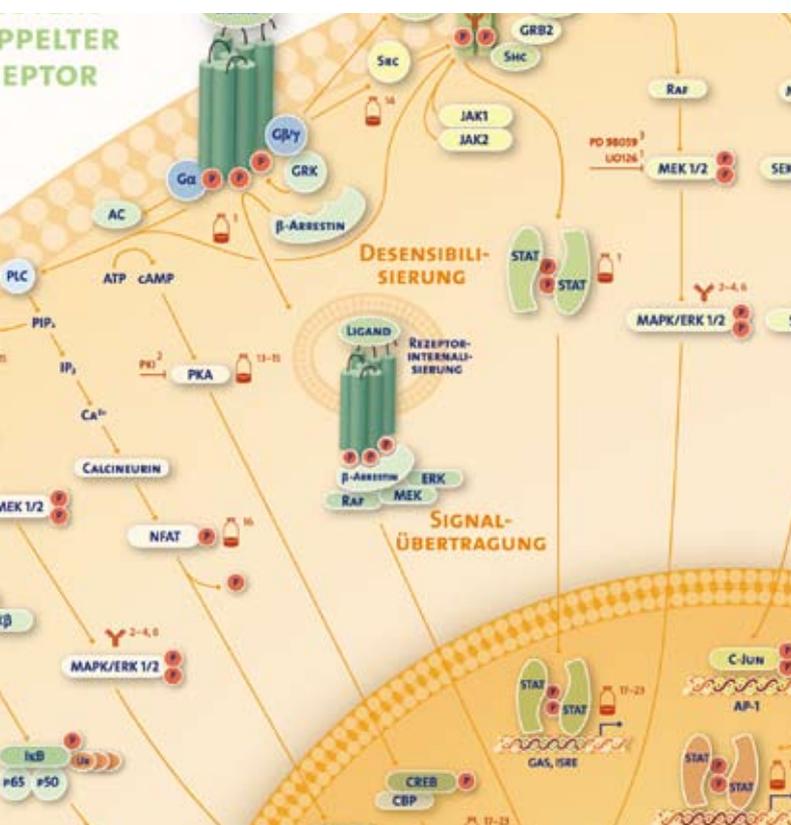


# シグナル伝達ガイド

抗体を使わない簡便な発光法による解析法



Contents :

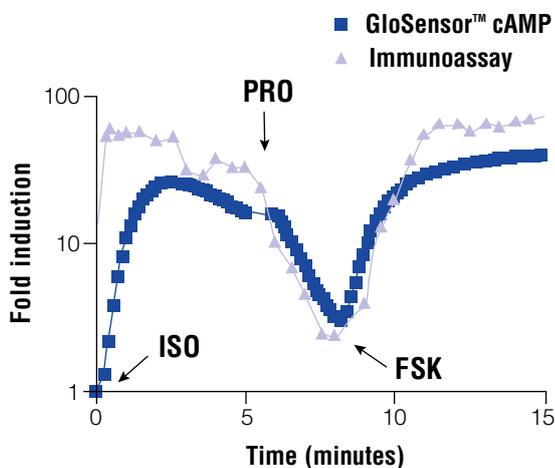
- イントロダクション
- レポーター&センサーを利用した細胞内シグナルのモニタリング
- 発光法によるセカンドメッセンジャーの解析
- 発光法によるキナーゼの解析
- 発光法によるプロテアーゼシグナルの解析
- 細胞メタボリズム (生存性&毒性)
- 関連製品

## 抗体を使わない簡便な発光法によるシグナル伝達研究 よりシンプルでスマートな発光によるシグナル解析法

シグナル伝達研究における各パスウェイの活性化の検出や創薬分野におけるスクリーニングでは、抗体あるいは蛍光物質と組み合わせた方法が広く用いられています。抗体を用いたウェスタン分析やELISAはコストが高く、操作が煩雑であるため多検体の処理には適しません。また、TR-FRET を代表例とするスクリーニング用の蛍光アッセイ法は有用ですが、シグナルバックグラウンド比は発光法にはおよびません。プロメガでは高感度でダイナミックレンジの広い発光法を駆使した、シグナル伝達解析ツールをそろえており、GPCR シグナル、cAMP、キナーゼ活性、転写応答に至る一連のシグナルを簡便に測定することができます。

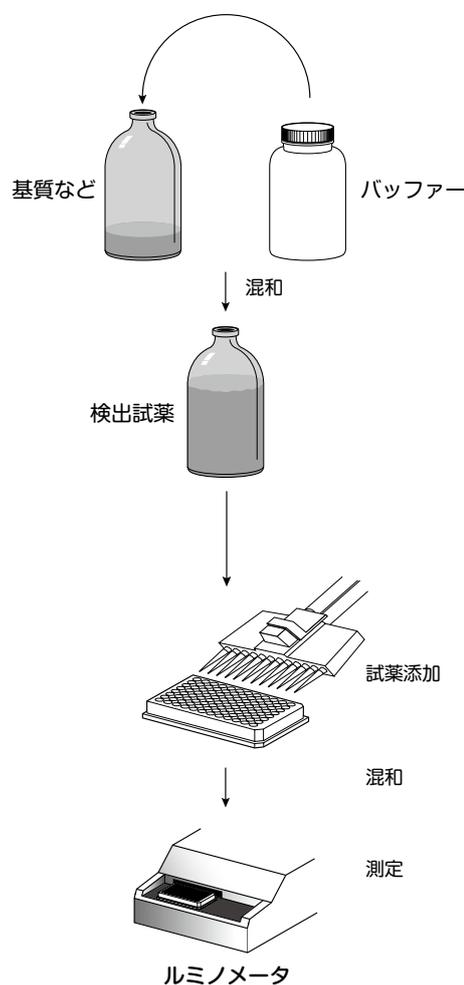
### 発光法の利点

- **優れた定量性**：発光によるアッセイ法は、抗体法や蛍光法に比べて高感度で、化合物の蛍光による干渉もありません。
- **簡便性**：試薬を加えて混ぜるだけのシンプルな操作なので、多検体処理や自動化が容易です。また、細胞ベースのアッセイでは抽出/分離などの煩雑な操作は不要です。
- **シンプル**：標的分子ごとに抗体を揃える必要が無く、実験系をシンプルにまとめることができます。



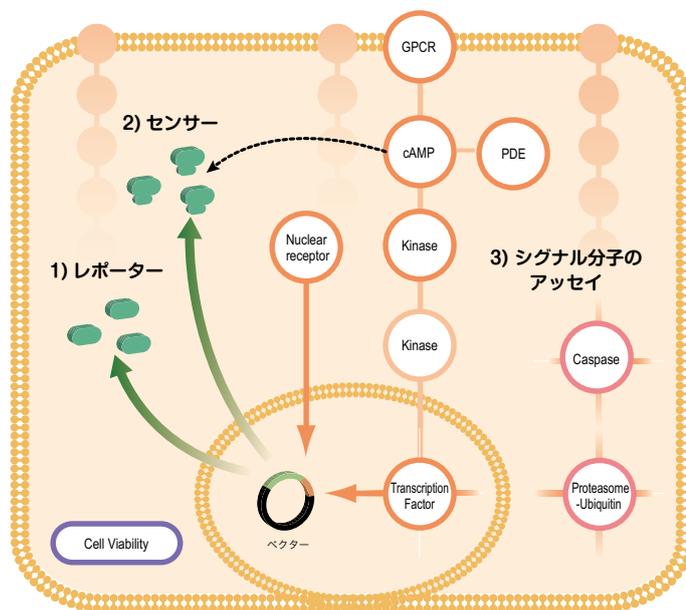
### GloSensor™ cAMP System と ELISA 法との相関性

HEK293 細胞の内在性アドレナリンβ<sub>2</sub>レセプターをインプロテノーラール:ISO (アゴニスト)、プロプラノロール:PRO (アンタゴニスト) およびフォルスコリン:FSK (アデニル酸シクラーゼ作用薬) で順次刺激し、GloSensor™ cAMP System および ELISA 法で cAMP レベルをモニタリングした。



シンプルな発光アッセイ法の操作例

## イントロダクション



	ページ
pGL4 Vectors	4
GloSensor™ cAMP	7
cAMP-Glo™ Assay	8
PDE-Glo™ Assay	9
ADP-Glo™ Assay	10
Kinase-Glo™ Assay	11
Caspase-Glo® Assay	12
Proteasome-Glo™ Assay	13
DUB-Glo™ Assay	13
CellTiter-Glo® Assay	14
CytoTox-Glo™ Assay	15

### 発光法のアプローチ

#### 1) 各種シグナル応答配列を含むレポーターベクターを用いたレポーターアッセイ

一般的にルシフェラーゼレポーターアッセイはその高い感度や簡便性により転写制御など幅広い研究に使用されています。各シグナル経路に特異性を有する応答配列をレポーター遺伝子に付加することでシグナル経路の活性化を容易に捉えることができるため、シグナル伝達解析にも多用されています。プロメガのpGL4ルシフェラーゼベクターはオフターゲット効果の低減や誘導倍率が飛躍的に改善されているため、複雑な細胞内のシグナルを検出する上で最適のベクターです。

#### 2) 細胞内シグナル分子の結合を高感度に感知するバイオセンサー

プロメガのGloSensor™ テクノロジーは、特定の分子に反応する感受領域を導入したルシフェラーゼセンサーをコードするプラスミドを用いて細胞内（あるいは in vitro）で発現させ、標的分子が感受領域に特異的に作用することにより不活化したルシフェラーゼが活性化するシステムを採用しています。プロテインキナーゼAのcAMP結合領域であるR11βサブユニットをルシフェラーゼに組込んだGloSensor™ cAMP Systemは、細胞内のcAMPをリアルタイムでモニタリングすることができます。

#### 3) 発光反応とカップリングさせたシグナル分子のアッセイ

ルシフェラーゼ反応を構成する分子であるATPおよびルシフェリンは様々な生体分子のアッセイに利用されており、それぞれ 1) ATPを介した酵素反応とルシフェラーゼ発光反応のカップリング（例：キナーゼ、ADP、ATPaseなど）。 2) 修飾ルシフェリンを標的とする活性によりルシフェリンを産生する反応とルシフェラーゼ発光反応のカップリング（例：カスパーゼなどのプロテアーゼ）により標的分子を発光シグナルとして検出することができます。



# 各種シグナル経路のモニタリング (レポーター)

## pGL4 Response Element Vectors

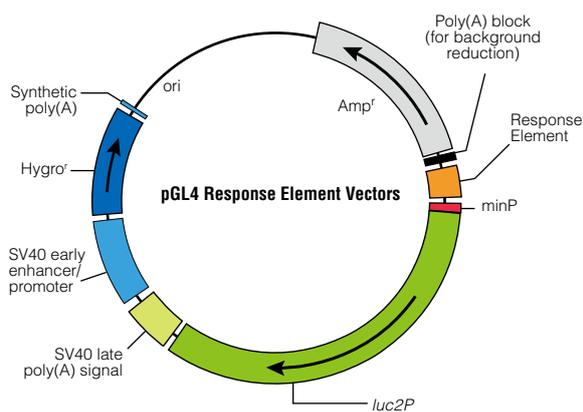
### 主要なシグナル伝達経路を高感度にモニタリング



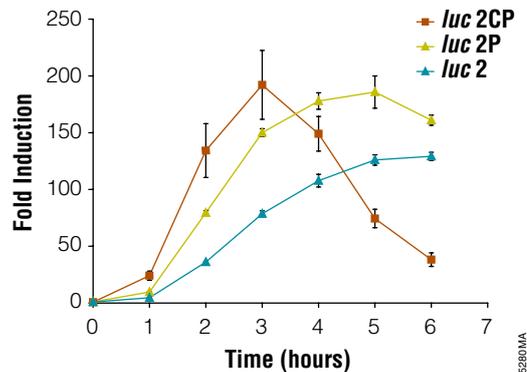
ルシフェラーゼレポーターは、シグナル伝達経路の研究やGPCRなどの受容体活性を制御する物質の探索に有効です。例えば、細胞内のcAMPレベルを調節している受容体の挙動は、一般にcAMP 応答配列 (CRE) によってルシフェラーゼの転写と連動します。しかし、従来のレポーターベクターでは標的とするシグナルに反応する配列以外にも転写に影響を及ぼすコンセンサス転写因子結合サイトがベクター内に点在することでオフターゲット効果が現れたり、レポーター酵素の半減期が長いために応答性が鈍く鋭敏なシグナルの検出を困難にしていました。

pGL4 Vectorシリーズは哺乳動物細胞における最適な発現を可能にする次世代のルシフェラーゼレポーターベクターです。レポーター遺伝子の発現や安定性に対する最適化を始め、プラスミドベクター内の転写因子結合サイトの除去、最小限プロモーター (minP) の導入など様々な改良を加えております。これらの技術革新により、従来のレポーターベクターでは実現できない微細な細胞内シグナルの変化を検出し、応答配列に応じた様々なシグナルを正確に測定することができます。

pGL4 応答配列導入ベクターには現在7種類のシグナル経路に対応した応答配列を有するベクターがあり、応答配列の最適化も行われています。また、これらのpGL4 応答配列導入ベクターを安定にトランスフェクションした細胞株もご用意しております。また、任意の応答配列をpGL4に組み込み、標的とする様々なシグナルを捉えることができます。

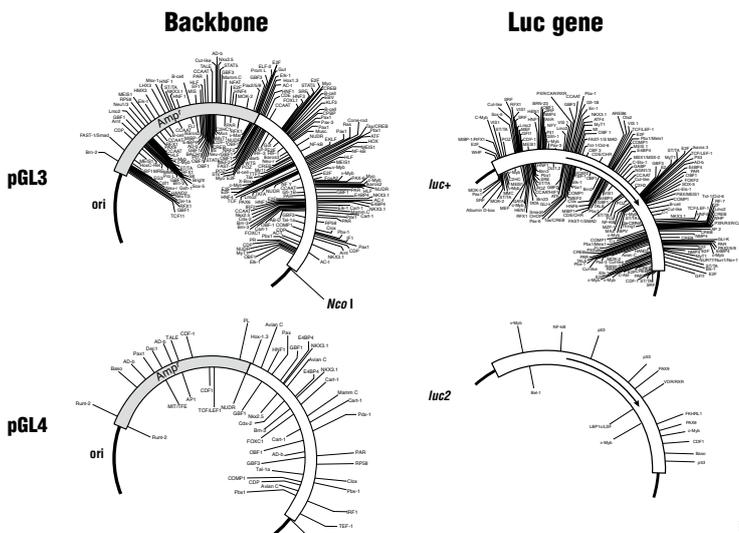


応答配列を導入した典型的な pGL4 ベクターのサークルマップ

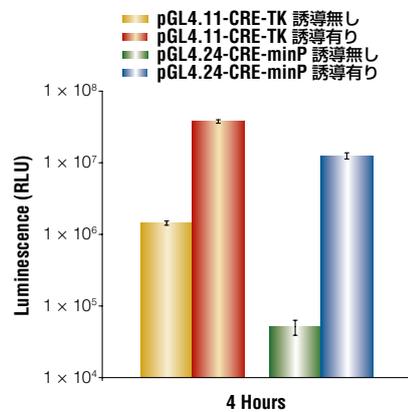


不安定化ルシフェラーゼによる反応性の向上と最大誘導到達時間の短縮

luc2: ホタルルシフェラーゼ、luc2P: hPEST 配列を付加したホタルルシフェラーゼ、luc2CP: hCL1、hPEST 配列を付加したホタルルシフェラーゼ。これらのルシフェラーゼは cAMP 応答配列 (CRE) の反応をモニタリングするために用いられた。CRE-luc を安定発現させた HEK293 細胞を 1 $\mu$ M イソプロパノール /100 $\mu$ M R0-20-1724 で誘導し、4 時間ごとに細胞を収集して測光した。



変動的な発現要因となるコンセンサス配列の pGL3 と pGL4 の違い  
従来のルシフェラーゼレポーターベクターのレポーター遺伝子およびベクター骨格に存在する転写因子結合サイトの多くが pGL4 ベクターでは除去されている。

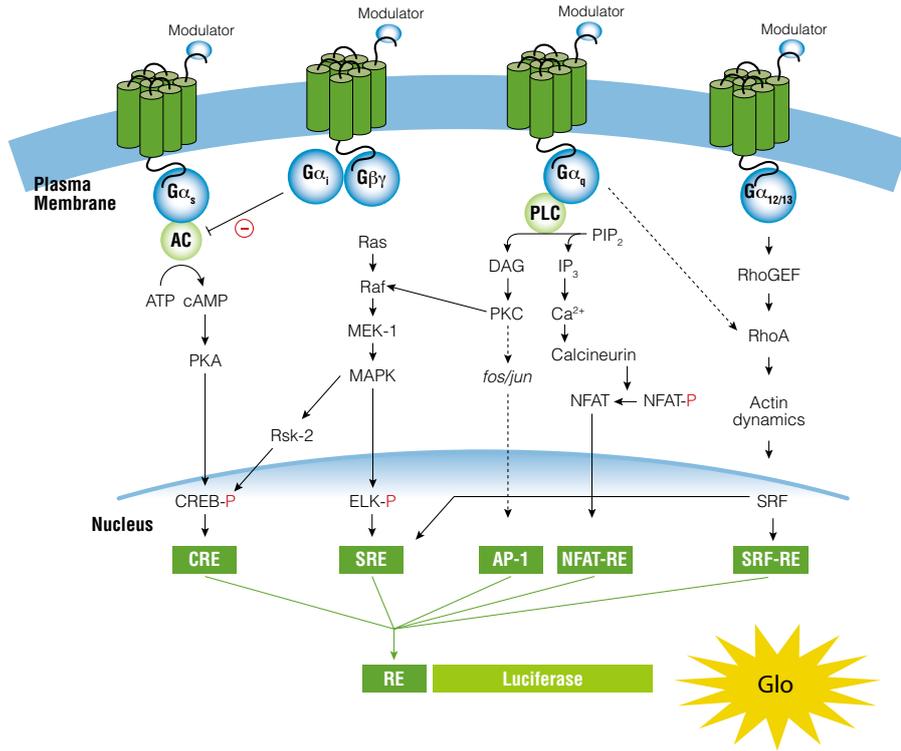


CRE-minP を含む pGL4 の誘導倍率

luc2P レポーター遺伝子上流に CRE および HSV-TK プロモーターの一部を含む pGL4.11 (pGL4.11-CRE-TK)、CRE および minP を含む pGL4.24 (pGL4.24-CRE-minP) をそれぞれ内部標準用ベクター (pGL4.74) とともに HEK293 細胞にトランスフェクションした。24 時間後、1 $\mu$ M イソプロテネロールを添加して内在する受容体を刺激し、4 時間後のレポーター活性を測定した。

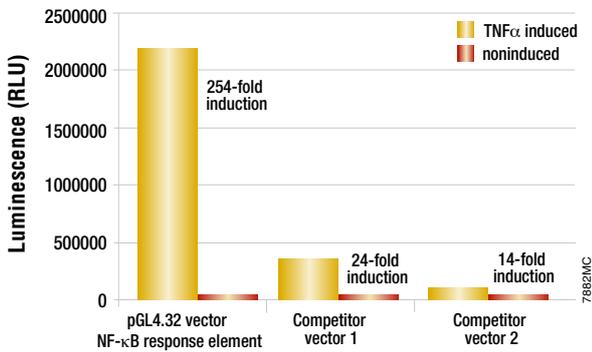


## 各種シグナル経路のモニタリング (レポーター)

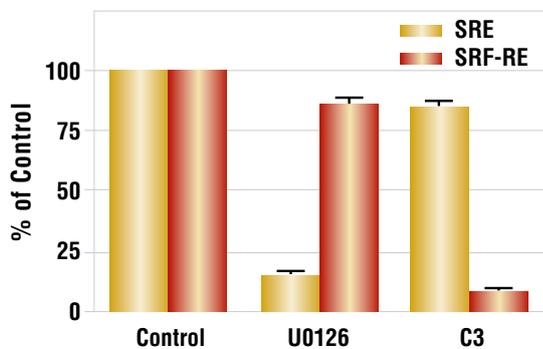


ルシフェラーゼレポーターを利用した GPCR シグナル伝達経路の解析

TNF $\alpha$  5-hr stimulation HEK293



NF- $\kappa$ B 応答配列を有する pGL4 と他社ベクターとの発光レベルの比較



pGL4 に含まれる SRE と SRF-RE の明瞭な応答性の違い

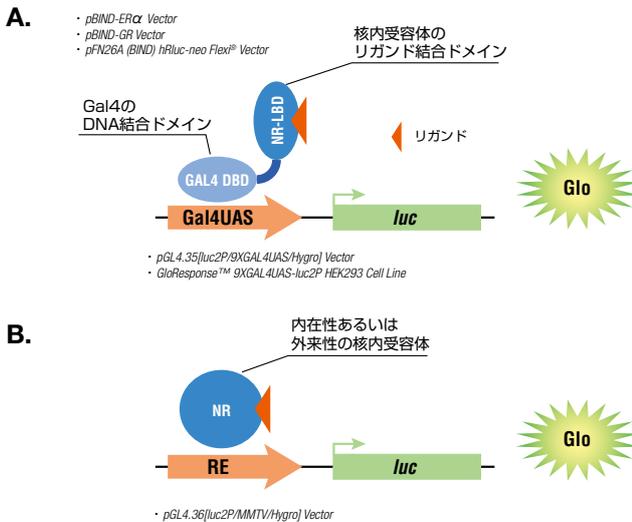
HEK293 に SRE-*luc2P* または SRF-RE-*luc2P* を含むベクターとウミシイタケレポーターベクターをコトランスフェクションし、U0126 (MEK 阻害剤) または C3 Transferase (RhoA 阻害剤) で前処理し、SRE は PMA、SRF は FBS で誘導した。

ベクター	応答エレメント	シグナル経路
pGL4.29[ <i>luc2P</i> /CRE/Hygro] Vector (カタログ番号 E8471)	cAMP 応答エレメント (cyclic AMP Response Element; CRE)	cAMP/PKA
pGL4.30[ <i>luc2P</i> /NFAT-RE/Hygro] Vector (カタログ番号 E8481)	NFAT 応答エレメント (Nuclear Factor of Activated T-Cells Response Element; NFAT-RE)	カルシウム / カルシニウリン
pGL4.35[ <i>luc2P</i> /9X GAL4UAS/Hygro] Vector (カタログ番号 E1370)	GAL4 上流活性化配列 (GAL4 upstream activating sequence; GAL4UAS)	多様 (GAL4-DNA 結合ドメインによる結合と活性化を要する)
pGL4.32[ <i>luc2P</i> /NF- $\kappa$ B-RE/Hygro] Vector (カタログ番号 E8491)	NF- $\kappa$ B 応答エレメント (Nuclear Factor $\kappa$ B Response Element; NF- $\kappa$ B-RE)	NF- $\kappa$ B
pGL4.33[ <i>luc2P</i> /SRE/Hygro] Vector (カタログ番号 E1340)	血清応答配列 (Serum Response Element; SRE)	MAPK/ERK
pGL4.34[ <i>luc2P</i> /SRF-RE/Hygro] Vector (カタログ番号 E1350)	血清応答因子 応答配列 (Serum Reponse Factor Response Element; SRF-RE)	RhoA
pGL4.36[ <i>luc2P</i> /MMTV/Hygro] Vector (カタログ番号 E1360)	マウス乳癌ウイルス末端反復配列 (Murine Mouse mammary Virus Long Terminal Repeat; MMTV-LTR)	アンドロゲン受容体、グルココルチコイド受容体を含むいくつかの核内受容体

# 各種シグナル経路のモニタリング (レポーター)

## 核内受容体

レポーターを利用した核内受容体のシグナル解析として、核内受容体のリガンド結合ドメイン (LBD) を酵母のGal4転写因子のDNA結合ドメインに融合した発現タンパク質を利用するワン-ハイブリットシステム[A]とアンドロゲン受容体、グルココルチコイド受容体などが結合することが知られているマウス乳癌ウイルス (MMTV) 末端反復配列 を利用する方法 [B]があります。



核内受容体によるシグナル解析のための2つのアプローチ

## デュアル-ルシフェラーゼアッセイ

スクリーニングなどで化合物を添加する場合、細胞毒性が正味のレポーター発現を低下させ、擬陰性としてあらわれる場合があります。しかし、第2のレポーターを用いれば内部標準レポーターの正味の発現も低下するため、このような擬陰性を避けることが出来ます。

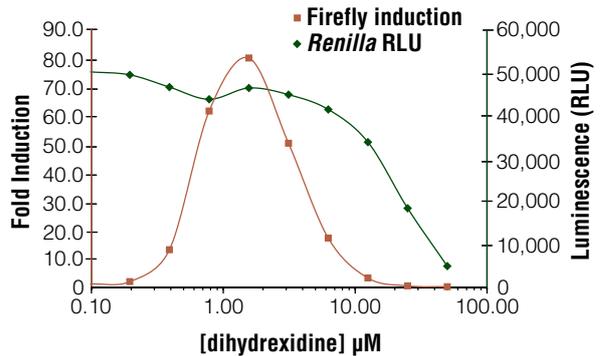
### pGL4-RE-luc2P



### pF9A CMV hRluc-Neo<sup>r</sup>



**Dual-Luciferase<sup>®</sup> GPCR アッセイに使用する2種類のプラスミドの概略図**  
RE: Response Element/ Promoter, luc2P; hPEST 配列を付加した Rapid Response™ ホタルルシフェラーゼ、PSV40; SV40 プロモーター、PCMV; CMV プロモーター、Rluc-NEO<sup>r</sup>; ウミシイタケルシフェラーゼとネオマイシン耐性遺伝子のフュージョン



内部標準により明らかになった擬陰性 (化合物の毒性による誘導倍率の低下)

CRE-luc2P を含み、DRD1 受容体 を発現する HEK296 細胞を Dihydroxidine で処理した後、Dual-Glo™ Assay System (カタログ番号 E2920) でホタルおよびウミシイタケルシフェラーゼを検出した。

製品名 サイズ カタログ番号 価格 (¥)

### pGL4 Response Element Vectors

#### pGL4 転写因子応答配列

pGL4.29[luc2P/CRE/Hygro] Vector	20 $\mu$ g	E8471	64,000
pGL4.30[luc2P/NFAT-RE/Hygro] Vector	20 $\mu$ g	E8481	64,000
pGL4.32[luc2P/NF- $\kappa$ B-RE/Hygro] Vector	20 $\mu$ g	E8491	64,000
pGL4.33[luc2P/SRE/Hygro] Vector	20 $\mu$ g	E1340	64,000
pGL4.34[luc2P/SRF-RE/Hygro] Vector	20 $\mu$ g	E1350	64,000
pGL4.35[luc2P/9XGAL4UAS/Hygro] Vector	20 $\mu$ g	E1370	64,000

#### pGL4 核内受容体応答配列

pGL4.31[luc2P/Gal4UAS/Hygro] Vector	20 $\mu$ g	C9351	64,000
pGL4.36[luc2P/MMTV/Hygro] Vector	20 $\mu$ g	E1360	64,000

#### pGL4 任意応答配列導入用

pGL4.24 [luc2P/minP] Vector	20 $\mu$ g	E8421	64,000
pGL4.27 [luc2P/minP/Hygro] Vector	20 $\mu$ g	E8451	64,000

※上記以外の pGL4 については [www.promega.co.jp/lit/pgl4.html](http://www.promega.co.jp/lit/pgl4.html) をご覧下さい

#### 安定発現細胞株

GloResponse™ NF- $\kappa$ B-RE-luc2P HEK293 Cell Line	2バイアル	E8520	715,000
GloResponse™ CRE-luc2P HEK293 Cell Line	2バイアル	E8500	715,000
GloResponse™ NFAT-RE-luc2P HEK293 Cell Line	2バイアル	E8510	715,000
GloResponse™ 9XGAL4UAS-luc2P HEK293 Cell Line	2バイアル	E8530	715,000

#### 核内受容体融合タンパク質発現

pBIND-ER Vector	20 $\mu$ g	E1390	64,000
pBIND-GR Vector	20 $\mu$ g	E1581	64,000
pFN26A (BIND) hRluc-neo Flexi <sup>®</sup> Vector	20 $\mu$ g	E1380	64,000

#### 受容体発現

pF9A CMV hRluc-neo Flexi <sup>®</sup> Vector	20 $\mu$ g	C9361	58,000
--	------------	-------	--------

#### アッセイ試薬

Dual-Glo™ Luciferase Assay System	10ml	E2920	33,000
	100ml	E2940	264,000
Dual-Luciferase <sup>®</sup> Reporter Assay System	100 回分	E1910	27,500
	10x100 回分	E1960	218,000
ONE-Glo™ Luciferase Assay System	10ml	E6110	18,500
	100ml	E6120	121,000

プロメガ資料: [www.promega.co.jp/lit/pgl4.html](http://www.promega.co.jp/lit/pgl4.html)

※製品購入における注意点: pGL4 の使用は非営利組織 (大学、公的研究機関など)、営利組織にかかわらず、ライセンスプログラムの内容 ([www.promega.co.jp/license/](http://www.promega.co.jp/license/)) をご確認ください。



cAMPのモニタリング (センサー)

GloSensor™ cAMP Assay

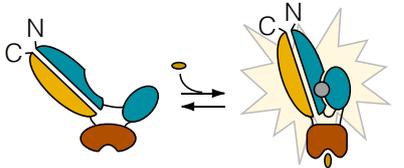
組換えルシフェラーゼ センサーによる直接的なcAMPモニタリング



GloSensor™ cAMP Assayは、細胞内のcAMPレベルを測定する新しいアプローチを提供します。cAMPはGasおよびGaiタンパク質を介したGPCRのシグナル伝達に与する重要なセカンドメッセンジャーです。ホタルルシフェラーゼの内部にcAMP結合部位を組み込んであるため、cAMPが結合すると構造が変化して発光量が増加します。この生細胞アッセイはcAMPを通じたシグナル伝達のカイネティクスやモジュレーションの研究に最適です。

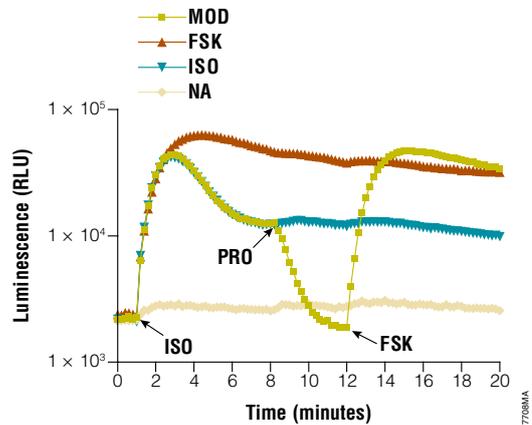
選択した細胞株で標的受容体およびバイオセンサーを一過性に発現させてGloSensor™ cAMP Assayを行います。また、バイオセンサーと受容体を安定に発現する細胞株を調製して実施することもできます。プロトコルはシンプルで、細胞をGloSensor™ cAMP Reagentで事前に約2時間平衡化します。その後、特異的なアゴニスト/アンタゴニストあるいは化合物で処理し、10~30分後に発光を測定します。それ以外に試薬の添加や手作業は不要です。インジェクターが付属する標準的なルミノメーターで測定することができます。GloSensor™ cAMP Reagentは、本アッセイでの使用に必要です。

- シンプルなアッセイ :HTS や ultra HTS (例 : 3456- ウェル形式) に理想的な 0 ステップアッセイ
- リアルタイムの測定 : 処理後 15 分で cAMP レベルを検出
- より生体反応に近いデータ : 非溶解性の生細胞アッセイによるカイネティックなデータ取得



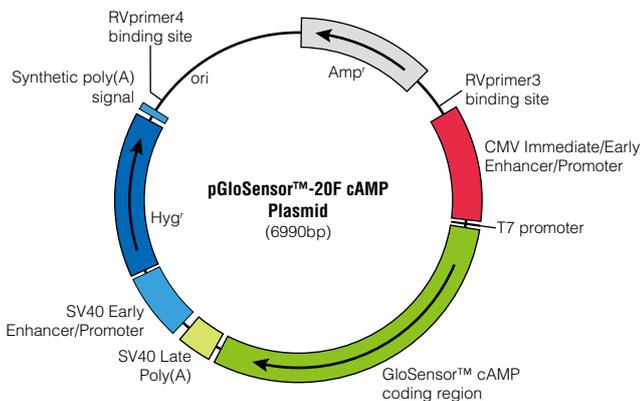
GloSensor™ cAMP Assay の発光原理

Allosteric (アロステリック型) 改変ルシフェラーゼ遺伝子 : cAMP が結合するドメイン (RII β B) の構造変化により発光シグナルが調節される。



アロステリック cAMP バイオセンサー

生細胞 (37°C) におけるシグナルのカイネティクスと可逆性。cAMP バイオセンサーを一過性に発現する HEK293 細胞を 10µM イソプロテレンール (ISO) または 10µM フォルスコリン (FSK) それぞれ単独で処理した。変調を加える細胞は、10µM ISO、10µM プロプラノール (PRO) および 10µM FSK で連続的に処理した (n=3)。Fan, F. et al. (2008) ACS Chem. Biol. 3, 346-51. より許可を得て転載した。



pGloSensor™ -20F cAMP Plasmid のベクターマップ

製品名	サイズ	カタログ番号	価格 (¥)
<b>GloSensor™ cAMP Assay</b>			
<b>ベクターおよび安定発現細胞株</b>			
pGloSensor™-20F cAMP Plasmid	20µg	E1171	100,000
GloSensor™ cAMP HEK293 Cell Line	2 バイアル	E1261	800,000
<b>アッセイ試薬</b>			
GloSensor™ cAMP Reagent	1 vial (25mg*)	E1290	50,000
	1 vial (250mg*)	E1291	230,000

プロメガ資料 : [www.promega.co.jp/lit/glosensor.html](http://www.promega.co.jp/lit/glosensor.html)

\* 25mg は 384 ウェル形式で 817 ウェル分

※製品購入における注意点 : GloSensor™ cAMP Assay の使用は非営利組織 (大学、公的研究機関など)、営利組織にかかわらず、ライセンスプログラムの内容 ([www.promega.co.jp/license/](http://www.promega.co.jp/license/)) をご確認ください。

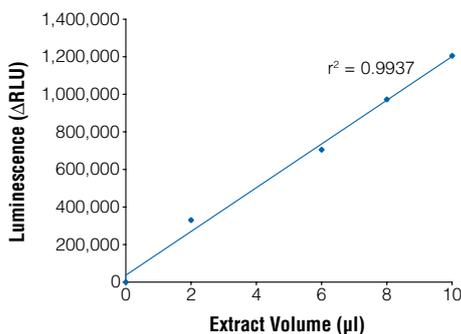
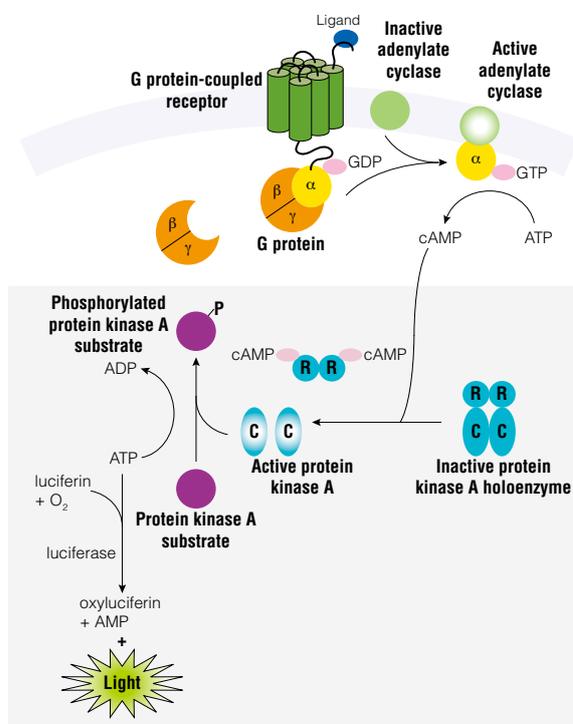
# cAMP-Glo™ Assay

## 細胞内cAMPを発光法により高感度に検出



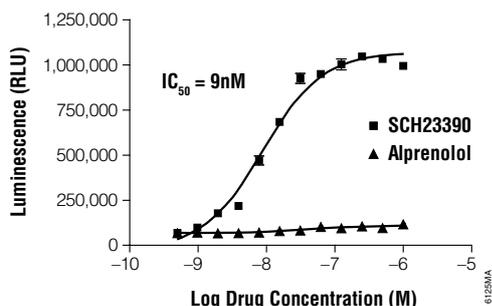
cAMP-Glo™ Assayは、細胞内のcAMPレベルを測定するための試薬で、発光法によるホモジニアスなハイスルーブットアッセイを可能にします。cAMP-Glo™ Assayは、Gタンパク質共役型受容体 (GPCR) におけるアゴニストまたはテスト化合物の影響によって変動する細胞内cAMP量をモニタリングします。アデニル酸シクラーゼと共役するGPCR は細胞内 cAMPを増加あるいは減少させます。本アッセイは、cAMPがプロテインキナーゼA ホロ酵素活性を刺激し、ルシフェラーゼ反応に利用可能なATP量を減少させ、それに伴い発光レベルが低下するという原理に基づいています。cAMP-Glo™ Assayは96、384または1536ウェルプレートでアッセイすることができます。cAMPレベルが変化する適切な時間をかけて、細胞をテスト化合物で誘導します。誘導後、cAMPを遊離させるために細胞を溶解し、プロテインキナーゼAを含む cAMP detection solutionを添加します。次にPKA反応を停止させ、ルシフェラーゼ反応により残存するATPを検出するKinase-Glo® Reagentを加えます。プレートはマイクロプレート用のルミノメーターで測定します。cAMP標準曲線を用いることにより発光レベルからcAMP濃度が決定されます。発光シグナルの半減期は4時間以上です。シグナルの半減期が長いので、ルミノメーターにインジェクターは不要で、マルチプレートのバッチモード処理を可能にします。

- **迅速で簡便**：細胞溶解後 2ステップで完了するシンプルなホモジニアスフォーマット (所要時間約 45 分)
- **優れたシグナル/バックグラウンド比 (S/B 比)**：優れた S/B 比 (>200 [cAMP], >15 [細胞]) を示し、1536 ウェルプレート以上のフォーマットにも簡単に変更可能
- **優れた発光技術を採用**：定評のある Ultra-Glo™ Recombinant Luciferase を使用しており、蛍光化合物による干渉もありません (Non-RI)。



### 組織抽出液を用いた cAMP-Glo™ Assay

ラット脳抽出液 2 ml/gm を、0.5 mM IBMX および 100 μM Ro20-1724 を含有する cAMP-Glo™ Lysis Buffer でホモジナイズし、70°Cで5分間加熱した。0、2、4、6、8 および 10 μl のサンプルに等量の Krebs Ringer バッファーを添加した後、cAMP-Glo™ 反応バッファーを添加することにより試験を行った。反応液を室温で 20 分間インキュベーションした後、等量の Kinase-Glo® Reagent を添加した。10 分後の相対発光量を測定し、溶解バッファーのみの RLU 値から各サンプルの RLU 値を減じることで、ΔRLU を算出した。ΔRLU = RLU (0μl) - RLU (サンプル)



### SCH23390 の IC<sub>50</sub> の決定

D1 受容体を発現する HEK293 細胞を 100nM SKF38393 (アゴニスト) の存在下で表示量の SCH23390 で処理した後、cAMP-Glo™ で測定した。

### cAMP-Glo™ Assay の原理の概略図

細胞内 cAMP 濃度の変化により、ヘテロ四量体として存在する不活性状態の cAMP 依存性プロテインキナーゼ (PKA) が修飾され、調節サブユニット二量体から酵素活性を有する触媒サブユニット 2 個が遊離する。PKA の活性化は、キナーゼ反応における ATP 基質の減少によりモニターでき、残存する ATP はルシフェラーゼ反応により定量できる。

製品名	サイズ	カタログ番号	価格 (¥)
<b>AMP-Glo™ Assay</b>			
cAMP-Glo™ Assay	300 ウェル分	V1501	53,000
	3,000 ウェル分	V1502	286,000
	30,000 ウェル分	V1503	お問い合わせ下さい

・表示のサイズは 384 プレートの場合。

・バルク注文については別途お問い合わせください。

プロメガ資料：www.promega.co.jp/lit/campglo.html

PDEアッセイ

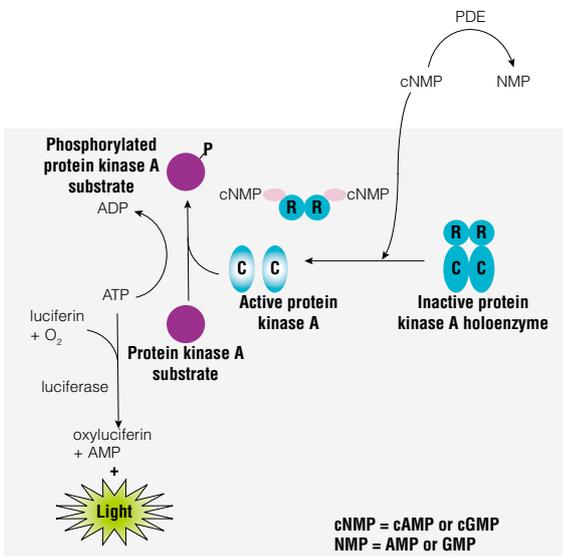
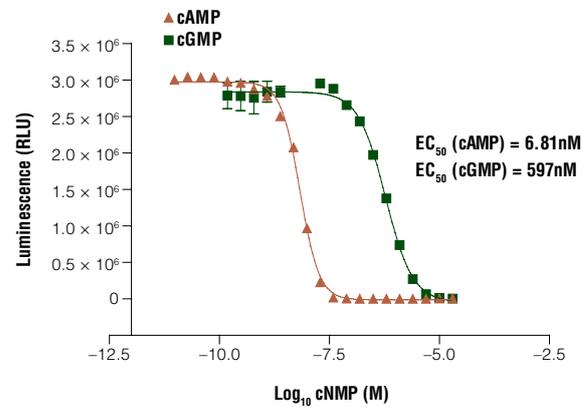
PDE-Glo™ Assay

発光法によるcAMP & cGMP-ホスホジエステラーゼアッセイ



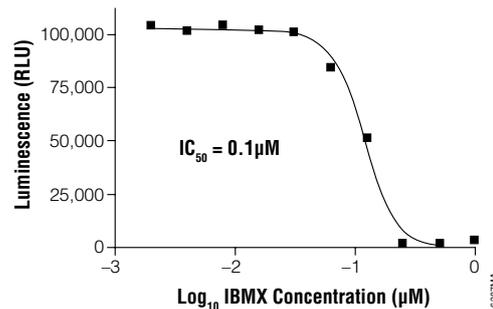
PDE-Glo™ Phosphodiesterase Assay は、精製物よりサイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼ (PDE) 活性を発光で測定するハイスループットスクリーニング (HTS) を行うためのシステムです。サイクリックヌクレオチドPDEは加水分解能を持ち、セカンドメッセンジャーであるシグナル分子cAMPやcGMPのレベルをコントロールするため、様々な細胞内プロセスに関与します。PDEに対する選択的阻害能は、サイクリックヌクレオチドのシグナリングの研究や細胞・組織の病理におけるPDEの役割を調べる上で有用です。本製品は化合物ライブラリーから阻害剤を同定するための候補化合物の探索に使用することができます。アッセイは384ウェルプレート用にデザインされていますが、アッセイボリュームは96や1536ウェルプレートフォーマットへ容易に変更することができます。PDE-Glo™ Phosphodiesterase Assay はcAMPおよびcGMP依存性ホスホジエステラーゼの両方の測定に最適化されています。アッセイの所要時間はPDE反応後1時間以内です。

- ・柔軟性：cAMP および cGMP PDE の両方を測定可能
- ・高感度：優れたシグナル/バックグラウンド比、1536 ウェルフォーマットにも対応
- ・迅速・簡便：ホモジニアスフォーマットで1時間以内にアッセイ完了
- ・信頼性の高い発光技術：Ultra-Glo™ Luciferase を使用した Non-RI アッセイ
- ・安心：蛍光化合物による阻害もなし



PDE-Glo™ Assay の測定原理

PDE-Glo™ Assay による cAMP および cGMP 用量反応曲線



ウシ脳 PDE を用いた阻害剤 IBMX のタイトレーション

製品名	サイズ	カタログ番号	価格 (¥)
PDE-Glo™ Assay	1,000 ウェル分	V1361	95,500
	10,000 ウェル分	V1362	お問い合わせ下さい

・表示のサイズは 384 プレートの場合。  
 ・バルク注文については別途お問い合わせください。  
 プロメガ資料：www.promega.co.jp/lit/pdeglo.html



# ADPアッセイ (キナーゼ、ATPase)

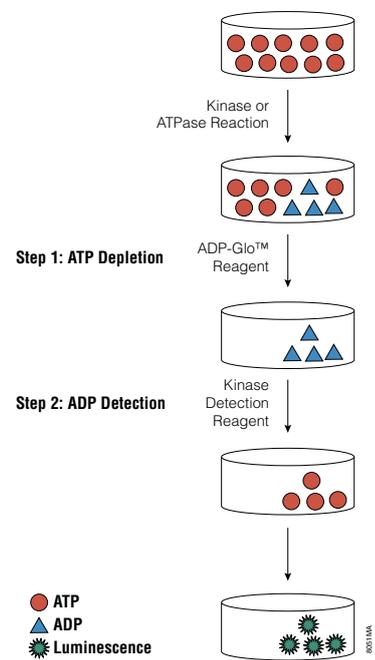


## ADP-Glo™ Assay

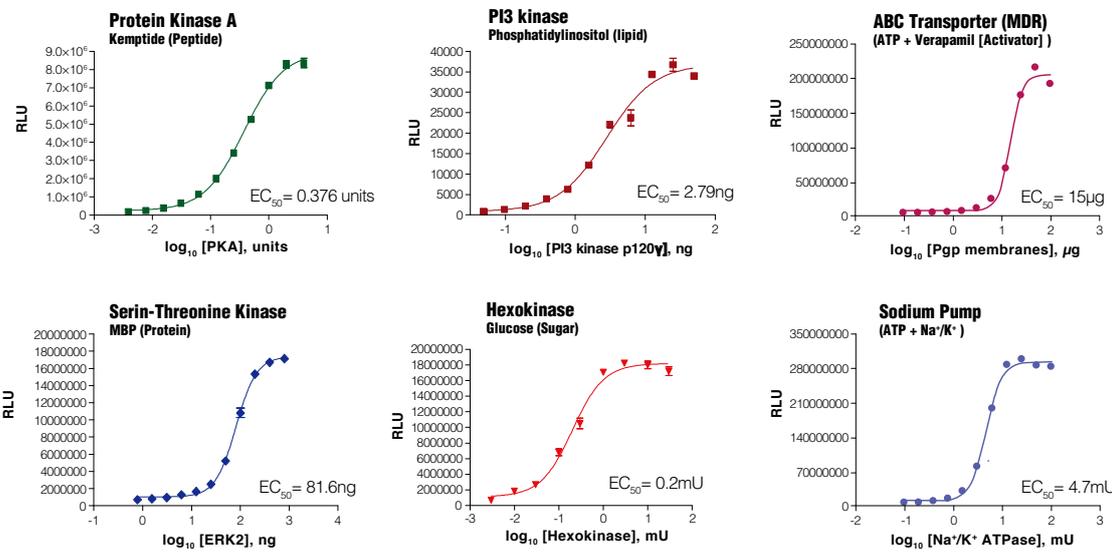
### 初めてのADP発光測定システム

ADP-Glo™ Kinase Assay は、キナーゼ反応より生成するADPを発光法により測定するキナーゼアッセイシステムです。ADPはATPに変換され Ultra-Glo™ Luciferaseにより発光シグナルを生じます。発光シグナルはキナーゼ活性と正の相関性を有します。このシステムは広範な精製キナーゼの活性に対する化合物の影響を測定する際に有効で、1次スクリーニングおよびキナーゼ選択性のプロファイリングにも利用することができます。また、ADP-Glo™ Kinase Assayは最大1mM ATPを使用してADPを生成するあらゆる酵素 (例、キナーゼ、ATPase) の活性をモニタリングすることができます。アッセイは2段階のステップにより行われます。まず、キナーゼ反応後に等量のADP-Glo™ Reagent を加えてキナーゼ反応 (ADP 生成反応) を停止させ、残存するATPを枯渇させます。次に、Kinase Detection Reagent を添加し、ADPからATPへの変換反応とルシフェラーゼ/ルシフェリン/生成ATPによる発光反応が同時に行われます。ADP-Glo™ Kinase Assay は広いダイナミックレンジを有し、低いATP/ADP変換率においても高いシグナルを生じるため、成長因子受容体チロシンキナーゼなど活性の低いキナーゼのスクリーニングにも最適です。このアッセイ法では擬陽性も低く、Z' 値は0.8以上を示します。

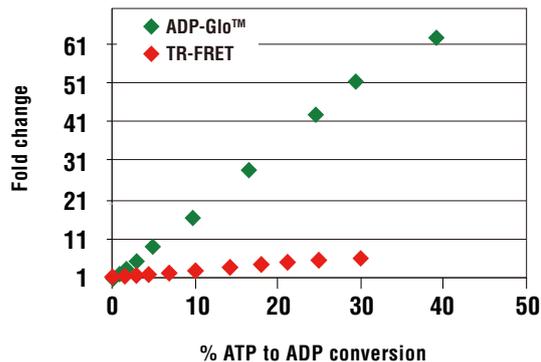
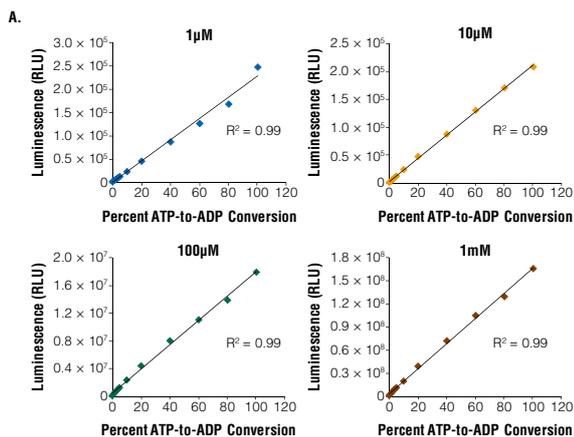
- **ATP/ADP 変換率が低くても高いシグナル強度**：研究者はより生体内に近い条件でキナーゼ活性を測定可能
- **高感度**：低濃度の ADP でも高感度に測定可能なことから、他のアッセイ法に比べ使用する酵素量を低く抑えられ、低コストを実現可能
- **ユニバーサル**：実質的にあらゆるキナーゼ測定に使用でき、研究者は広範なキナーゼを1つのシステムで測定可能 (費用の高いキナーゼ選択性プロファイリングのアウトソーシングは不要)
- **正確**：様々な初期 ATP 濃度で正確に ADP レベルが測定できるため、キナーゼ活性を反映した測定値が保証され、RI ベースのアッセイ法と同等の正確な IC<sub>50</sub> 値が得られます
- **広範な ATP レベルで測定可能**：最大 1mM の ATP 濃度で利用できるため、ATP に対する Km 値の高いキナーゼにも適応
- **安定な発光シグナル**：厳密に時間制御されたインキュベーションは不要で、プレートでのバッチ処理が可能
- **ATP 非活性・活性阻害を見分けられる**



ADP-Glo™ Kinase Assay の測定原理



ADP-Glo™ Kinase Assay を利用したキナーゼをはじめとする様々な ADP 生成酵素のアッセイ例



### ADP-Glo™ と TR-FRET (蛍光) 法との比較

ADP に対する抗体を利用した TR-FRET 法との ATP → ADP 変換率ともなう倍率変化の比較

**B. Signal-to-Background Ratios**

Percent ADP in an ATP + ADP Mixture

[ATP + ADP]	100	80	60	40	20	10	5	4	3	2	1	0
1µM	80	54	41	28	15	8	4	4	3	2	2	1
10µM	135	110	84	57	31	16	8	7	6	4	2	1
100µM	125	97	77	56	31	17	9	8	6	5	3	1
1mM	117	91	74	51	28	14	8	7	6	4	2	1

ADP-Glo™ Kinase Assay の感度、直線性と低 ATP/ADP 変換率での高い S/B 比

製品名	サイズ	カタログ番号	価格 (¥)
<b>ADP-Glo™ Kinase Assay</b>			
ADP-Glo™ Kinase Assay	1,000 回分	V9101	97,000
	10,000 回分	V9102	560,000
	100,000 回分	V9103	お問い合わせ下さい

・表示のサイズは 384 プレートの場合。

・バルク注文については別途お問い合わせください。

プロメガ資料: [www.promega.co.jp/lit/adpglo.html](http://www.promega.co.jp/lit/adpglo.html)

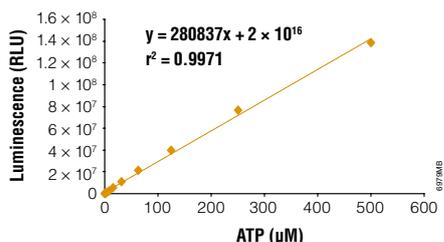
## キナーゼアッセイ

### Kinase-Glo® Assay

#### キナーゼが消費するATPを高感度に検出



Kinase-Glo® Luminescent Kinase Assayは、キナーゼ反応後に残存する溶液中のATPを定量することにより、精製キナーゼの活性を測定するNon-RIのホモジニアスアッセイ法を採用しています。マルチウェルプレートフォーマット用にデザインされており、タンパク質や脂質、糖質のリン酸化アッセイに使用できます。アッセイは1種類の試薬 (Kinase-Glo® Reagent) をキナーゼ反応に直接加えます。この添加により、キナーゼ反応が停止し、残存するATP量に比例した発光シグナルが生じます。生じる光の半減期は5時間以上で、プレートのバッチ処理が可能です。また、このアッセイでは96または384ウェルフォーマットで優れたZ'値 (>0.7)を示し、IC<sub>50</sub>値も文献で報告されたデータと同様の値を示しました。Kinase-Glo® Assay SystemにはATPに対する応答性の異なる3システムがあります。Kinase-Glo®は10µM ATPまでの直線性、Kinase-Glo® Plusは100µM ATPまでの直線性を有します。新しいKinase-Glo® Maxは500µM ATPまでの直線性があり、ATPに対して高いKm値を有するキナーゼの測定やATP結合サイトで競合しないキナーゼ阻害剤のスクリーニングなどに適しています。



#### ATP 量に応じた発光シグナル

Kinase-Glo® Assay system で得られた発光量は反応液中の ATP 量に比例する。Kinase-Glo® Max Assay は 500µM ATP までの直線性を有する。

製品名	サイズ	カタログ番号	価格 (¥)
<b>Kinase-Glo™ Kinase Assay</b>			
Kinase-Glo® Luminescent Kinase Assay	10ml	V6711	14,500
	100ml	V6713	55,000
Kinase-Glo® Plus Luminescent Kinase Assay	10ml	V3771	22,000
	100ml	V3773	88,000
Kinase-Glo® Max Luminescent Kinase Assay	10ml	V6071	26,500
	100ml	V6073	106,500

・ 10ml は 96 ウェルプレートの場合 200 ウェル分に相当。

・ バルク注文については別途お問い合わせください。

プロメガ資料: [www.promega.co.jp/lit/kinaseglo.html](http://www.promega.co.jp/lit/kinaseglo.html)



# カスパーゼシグナリング

## Caspase-Glo® Assay

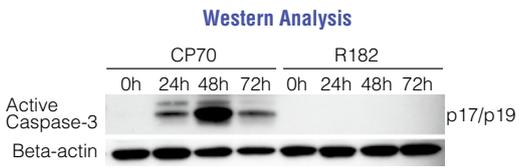
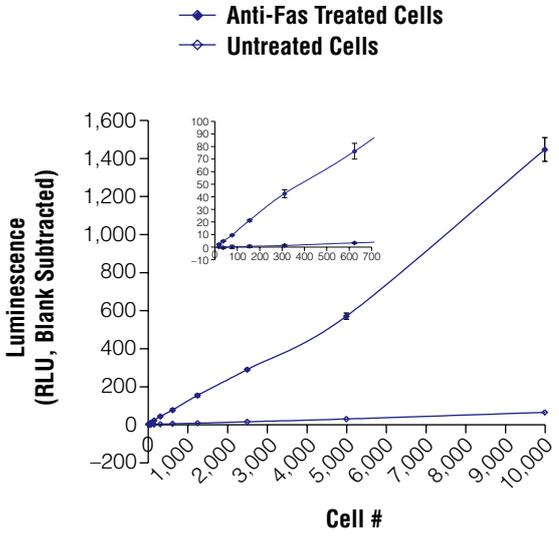
### 高感度でシンプルなカスパーゼアッセイシステム



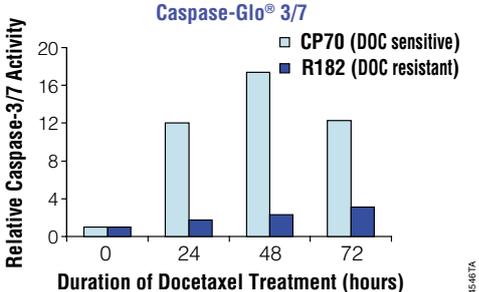
Caspase-Glo® Assayは、各種カスパーゼ活性を測定するためのホモジニアスフォーマット発光アッセイシステムです。本アッセイでは、プロテアーゼ認識配列を付加した発光基質アミノルシフェリンと特殊な耐熱性ルシフェラーゼを含む試薬がベースになっており、カスパーゼ活性に最適化されています。Caspase-Glo® Reagent を添加すると細胞が溶解し、続いてカスパーゼにより基質が切断されます。遊離したアミノルシフェリンは耐熱性のUltra-Glo™ Recombinant Luciferaseにより消費され、“グロータイプ”の発光シグナルを生じます。このシグナルはカスパーゼ活性に比例します。安定化されたルシフェラーゼおよび特殊なバッファシステムは、広範なアッセイ条件でのパフォーマンスを向上させます。本アッセイは、蛍光法や発色法のアッセイに比べて化合物による影響を受け難くなっています。

Caspase-Glo® 3/7, 8 および 9 Assay は培養細胞あるいは精製酵素を用いたマルチウェルプレートでのアッセイ用にデザインされています。Caspase-Glo® 2 および 6 Assay は、精製酵素を用いたアッセイ用に開発されています。Caspase-Glo® 8 および 9 Assay には、非特異的なバックグラウンドをより低減させるプロテアーゼ阻害剤MG-132が新たに添付されています。

- **30分で完了**：最も簡便なアポトーシスの判定法（サンプルと等量の試薬を1種類加えるのみ）
- **高感度**：感度の優れた発光法（20個の細胞でも検出）
- **優れたS/N**：蛍光法に比べ、低いバックグラウンド
- **優れたパフォーマンス**：細胞ベース、酵素ベースのアッセイとも優れたZ'-factor値を提示。
- **長時間発光**：3時間安定なグロータイプのシグナルによりバッチ法によるプレート処理も可能。
- **マルチアッセイ**：他のセルベースアッセイとの併用が可能



**Jurkat 細胞を用いた場合の Caspase-Glo® 3/7 Assay の感度**  
Jurkat 細胞は抗-Fas mAb で 4.5 時間処理し、アポトーシスを誘導した。Caspase-Glo® Reagent 添加 1 時間後に測定した。



ウェスタン分析と Caspase-Glo® の相関性

製品名	サイズ	カタログ番号	価格 (¥)
<b>Caspase-Glo® 3/7 Assay</b>			
<b>細胞・酵素ベースアッセイ</b>			
Caspase-Glo® 3/7 Assay	2.5ml	G8090	17,500
	10ml	G8091	66,000
	100ml	G8092	319,000
Caspase-Glo® 8 Assay	2.5ml	G8200	17,500
	10ml	G8201	66,000
Caspase-Glo® 9 Assay	2.5ml	G8210	17,500
	10ml	G8211	66,000
<b>酵素ベースアッセイ</b>			
Caspase-Glo® 2 Assay	10ml	G0940	66,000
Caspase-Glo® 6 Assay	10ml	G0970	66,000

プロメガ資料： [www.promega.co.jp/lit/caspiglo.html](http://www.promega.co.jp/lit/caspiglo.html)

\* 10ml は 96 ウェル形式で 100 ウェル分  
\* バルク注文については別途お問い合わせください。

NEW

## ユビキチン・プロテアソームシグナリング

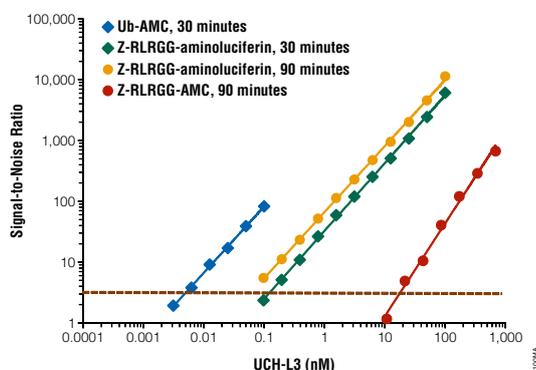


## Proteasome-Glo™ Assay

## DUB-Glo™ Protease Assay (DUB/SEN/P/NEDP)

## プロテアソームおよび脱ユビキチン化酵素 (DUB) の発光測定

Proteasome-Glo™ Systemは、プロテアソームに関連する3種類のプロテアーゼ活性を測定するためのホモジニアスな発光試薬3種類で構成されており、細胞ベースあるいは酵素ベースの測定フォーマットを採用しています。3つの発光基質は、プロテアソームのキモトリプシン様 (Suc-LLVY-aminoluciferin)、トリプシン様 (Suc-LRR-aminoluciferin)、カスパーゼ様 (Z-nLPnLD-aminoluciferin) の活性モニタリングに使用します。DUB-Glo™ Protease Assay (DUB/SEN/P/NEDP) は、脱ユビキチン化 (DUB)、脱SUMO化 (SEN/P)、脱NEDD化 (NEDP) プロテアーゼを含む脱結合酵素の活性を測定します。各発光基質を含む試薬をテストサンプルに加えると、基質が切断されてルシフェリンが遊離します。このルシフェリンがルシフェラーゼ反応により消費され、酵素活性あるいは阻害効果に応じたグロータイプの発光を生じます。



UCH-L3 を用いた DUB-Glo™ と蛍光アッセイ法との比較

製品名 サイズ カタログ番号 価格 (¥)

## Proteasome-Glo™ &amp; DUB-Glo™ Protease Assay

## 細胞ベースアッセイ

Proteasome-Glo™ Chymotrypsin-Like Cell-Based Assay	10ml	G8660	88,000
Proteasome-Glo™ Trypsin-Like Cell-Based Assay	10ml	G8760	88,000
Proteasome-Glo™ Caspase-Like Cell-Based Assay	10ml	G8860	88,000
Proteasome-Glo™ 3-Substrate Cell-Based Assay System	各10ml	G1180	216,500

## 酵素ベースアッセイ

Proteasome-Glo™ Chymotrypsin-Like Assay	10ml	G8621	58,500
Proteasome-Glo™ Trypsin-Like Assay	10ml	G8631	58,500
Proteasome-Glo™ Caspase-Like Assay	10ml	G8641	58,500
Proteasome-Glo™ 3-Substrate System	10ml	G8531	143,000
DUB-Glo™ Protease Assay	10ml	G6260	72,000
	10ml	G6261	260,000

## プロメガ資料：

[www.promega.co.jp/lit/proteasomeglo.html](http://www.promega.co.jp/lit/proteasomeglo.html)
[www.promega.co.jp/lit/dubglo.html](http://www.promega.co.jp/lit/dubglo.html)

\* 10ml は 96 ウェル形式で 100 ウェル分  
 ・上記以外のサイズについてはお問い合わせください。

NEW

## その他のプロテアーゼアッセイ

## Protease Assay Solution

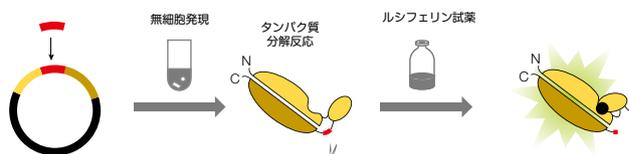
## 任意のプロテアーゼを発光で検出

**認識配列設計タイプ：**プロテアーゼ認識配列を自由に設計できるProtease-Glo™ Assayは、遺伝子改変したホタルルシフェラーゼセンサー (GloSensor™) を含むベクターに任意のプロテアーゼ認識配列をコードするオリゴヌクレオチドを導入します。無細胞発現系で発現させたバイオセンサーはプロテアーゼにより分解されると発光酵素として活性化します

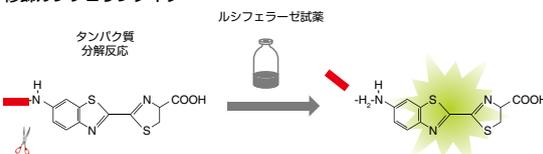
(詳細は [www.promega.co.jp/lit/proteaseglo.html](http://www.promega.co.jp/lit/proteaseglo.html))。

**修飾ルシフェリンタイプ：**プロテアーゼ認識配列が付加された修飾ルシフェリンを利用すれば、タンパク質分解反応後に生成されるルシフェリンが発光反応に利用され、プロテアーゼ活性に比例した発光シグナルを生じます。Caspase-Glo™などはこのような修飾ルシフェリンを利用したシステムです。詳細についてはお問い合わせください。

## 認識配列設計タイプ



## 修飾ルシフェリンタイプ



## プロテアーゼ活性測定のための2つの発光アッセイ法

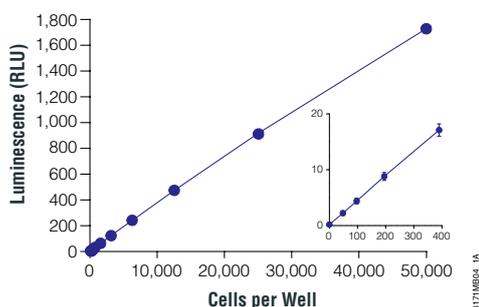
## CellTiter-Glo® Assay



### 細胞内ATPをベースとした代謝活性を鋭敏に測定

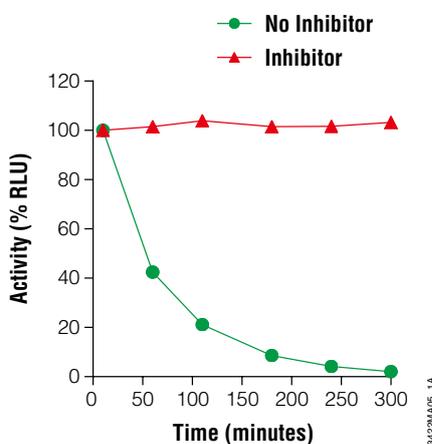
CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assayは、代謝活性のある細胞に由来するATPを定量することで培養中の生存細胞数を測定するワン-ショットタイプの細胞増殖・毒性システムです。マルチプレートのアッセイ用にデザインされており、自動化されたハイスループットスクリーニング (HTS) にも最適です。優れた感度を示すため、発色法では困難な浮遊細胞を用いる場合にも威力を発揮します。1種類の試薬を培養細胞 (血清含有) に加えるだけで、培地の除去・細胞の洗浄や複数回のピペッティングは不要です。試薬を加えると細胞溶解が始まり、存在するATP量に比例した発光シグナルが生じます。また、この試薬にはATPase阻害剤が含まれ、細胞溶解時にATPの減少を防ぐことができるため、より正確なATP測定が可能です。このシステムで生じる発光は、半減期の長い“グロータイプ” (5時間以上) なのでインジェクターを必要とせず、連続モードあるいはバッチモードの自動化システム両方に適応します。

- ・ **ホモジニアス**：ワン-ショットタイプ (添加→混合→測定) なので他のATP測定システムに較べプレートのハンドリングが最小限。
- ・ **迅速**：試薬添加 10 分後にデータが得られます。
- ・ **高感度**：標準的な発色または蛍光定量法に較べ優れた感度 (細胞 10 個 [384 プレート]、細胞 50 個 [96 プレート] を検出)。
- ・ **正確**：発色法より正確な定量性
- ・ **安定性**：発光が非常に安定 (5 時間以上)。
- ・ **応用性**：様々なマルチプレートに適応し、ルミノメーターあるいは CCD



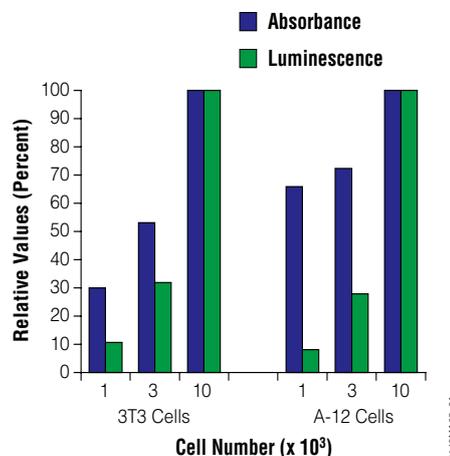
細胞数と発光量の相関関係

CellTiter-Glo® Assay で測定した場合、発光量と細胞数には直接的な相関関係が認められる。



#### CellTiter-Glo® Reagent による ATPase 活性の阻害

10% ウマ血清を含む DME/F-12 (1:1) に懸濁した L929 細胞 ( $1.5 \times 10^5$  cells/ml) から凍結 / 融解により調製したライセートを 2 つのプールに分けて、22℃ でインキュベーションした。一方のプールには等量の 50mM HEPES (pH 7.5; no inhibitor) を加え、もう片方には等量の CellTiter-Glo® Buffer (inhibitor) を添加した。60 分毎 (計 5 回) に 100µl を分取し 5X CellTiter-Glo® Substrate を 20µl 添加し、混和した。各タイムポイントで測定したサンプル数は 4 つ



#### CellTiter-Glo® Assay と従来法との比較

従来法は細胞内酵素によりテトラゾリウム塩 WST-1 から変換したホルマゼン産物を測定。NIH3T3 および A-12 (PARP-1 欠損) を表示量 96 ウェルプレートに播種した (100µl)。CellTiter-Glo® Reagent (100µl) または WST-1 (10 µl) を添加、混和し、インキュベーションした後に発光または吸光度を測定した。各測定は 4 ウェルずつ行い、細胞を含まないバックグラウンド値は差し引かず計算した。

製品名	サイズ	カタログ番号	価格 (¥)
CellTiter-Glo® Assay	10ml	G7570	13,000
	10X10ml	G7571	55,000
	100ml	G7572	49,500
	10X10ml	G7573	418,000

・ 10ml は 96 ウェルプレートで 100 ウェル分、384 ウェルプレートで 400 ウェル分。

・ バルク注文については弊社までお問い合わせください。

プロメガ資料： [www.promega.co.jp/lit/celltitglo.html](http://www.promega.co.jp/lit/celltitglo.html)

## 細胞メタボリズム

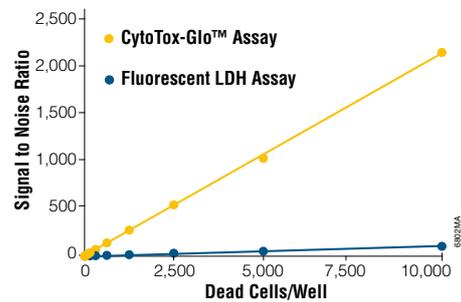
# CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay

## プロテアーゼマーカーによる新しい細胞毒性試験

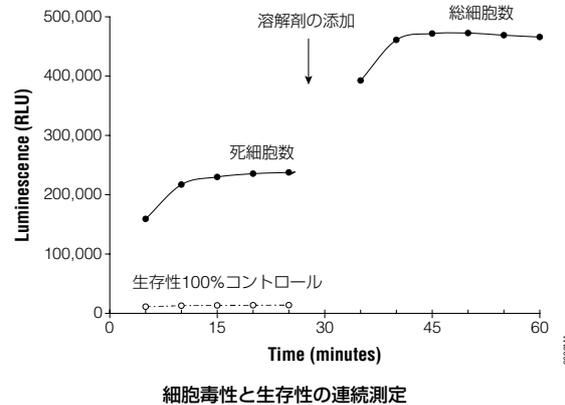
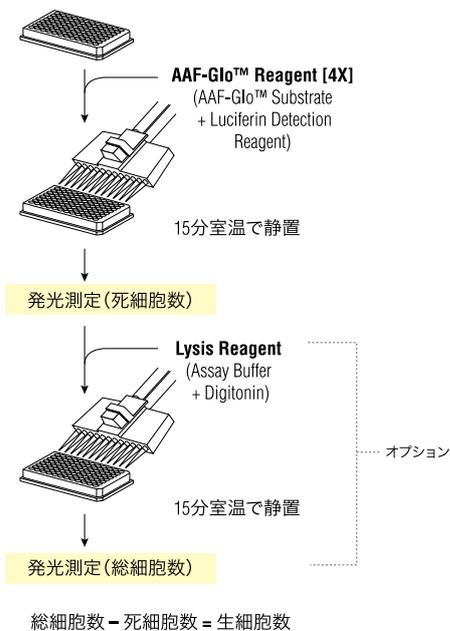


CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay は、細胞集団中の死細胞数を測定するための発光アッセイシステムで、死細胞由来プロテアーゼ活性を細胞毒性のマーカーとして使用します。発光性細胞非透過性ペプチド基質 (AAF-aminoluciferin) は、細胞膜の完全性を失った細胞から放出される死細胞由来プロテアーゼ活性を測定するために使用します。遊離したアミノルシフェリンは、アッセイ試薬に含まれるUltra-Glo™ Recombinant Luciferaseにより生じる グロータイプの発光として測定されます。AAF-aminoluciferin substrateは、生細胞のインタクトな細胞膜は透過できないため、生細胞集団からシグナルは生じません (検出限界以下)。本製品に添付される細胞溶解剤を加えることにより、各アッセイウェル内の総細胞数に応じた発光シグナルを得ることもできます。そのため、この総細胞数の発光値から死細胞の発光シグナルを差し引くことにより生存性を算出することもできます。CytoTox-Glo™ Assayは、細胞生存性を測定する他の方法と非常に良く相関します。

- ・ **高感度**：少数の死細胞を検出 (10 個) できるため初期ネクロシスも観察できます。
- ・ **デュアル アッセイ**：同一サンプルから死細胞と生細胞を計測可能 (全溶解プロトコル)。生細胞の減少による裏付けにより、安定で正確なデータを提示。
- ・ **簡便&迅速**：細胞に試薬を加えて 15 分後に測定。
- ・ **簡便**：1 種類の試薬を添加するだけのホモジニアスな 添加 - 混和 - 測定 プロトコル (全溶解プロトコルでは 2 液)。
- ・ **発光法**：安定な発光測定により蛍光物質による干渉問題が排除され、擬陽性も低減。



LDH 蛍光アッセイ法に較べ優れた CytoTox-Glo™ Assay の感度、ダイナミックレンジ



製品名	サイズ	カタログ番号	価格 (¥)
<b>CytoTox-Glo™ Assay</b>			
CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay	10ml	G9290	16,500
	5X10ml	G9291	67,000
	2X50ml	G9292	103,500

- ・ 10ml は 96 ウェルプレートで 100 ウェル分、384 ウェルプレートで 400 ウェル分。
- ・ バルク注文については弊社までお問い合わせください。

プロメガ資料： [www.promega.co.jp/lit/cytotoxglo.html](http://www.promega.co.jp/lit/cytotoxglo.html)

全溶解プロトコルによる細胞毒性と生存性の測定例

## 関連製品

# Signaling

## シグナル伝達研究サポート製品

製品名	サイズ	カタログ番号	価格 (¥)
<b>阻害剤</b>			
MEK Inhibitor U0126	5mg	V1121	32,000
SB 203580	1mg	V1161	20,000
PD 98059	5mg	V1191	20,000
LY 294002	5mg	V1201	20,000
Olomoucine (cdc2 Protein Kinase Inhibitor)	0.5mg	V2372	9,000
Olomoucine (cdc2 Protein Kinase Inhibitor)	10mg	V2373	36,000
cAMP-Dependent Protein Kinase Peptide Inhibitor	1mg	V5681	24,000
Myristoylated Protein Kinase C Peptide Inhibitor	1mg	V5691	10,000
InCELLect™ AKAP St-Ht31 Inhibitor Peptide	150µl	V8211	45,000
InCELLect™ St-Ht31P Control Peptide	150µl	V8221	45,000
<b>活性化剤</b>			
cGMP, 1mM	500µl	V6411	6,000
cAMP, 1mM	500µl	V6421	6,000
PMA	5mg	V1171	20,000
4α-PMA	1mg	V1181	15,000
<b>基質</b>			
cdc2 Protein Kinase Peptide Substrate	1mg	V2211	31,000
Kemptide (PKA) Peptide Substrate	1mg	V5601	5,500
Neurogranin <sub>28-43</sub> (PKC) Peptide Substrate	1mg	V5611	20,000
Casein Kinase II Peptide Substrate	1mg	V5661	23,000
DNA-Dependent Protein Kinase Peptide Substrate	1mg	V5671	30,000
Casein Kinase I Peptide Substrate	1mg	V7441	25,000
cGMP-Dependent Protein Kinase Peptide Substrate	1mg	V7451	32,000
<b>酵素</b>			
<b>キナーゼ</b>			
cAMP-Dependent Protein Kinase, Catalytic Subunit	2500U	V5161	25,000
cGMP-Dependent Protein Kinase (α-Isozyme)	6000U	V5171	25,000
Protein Kinase C	2x0.5µg	V5261	68,000
EGF Receptor	10U	V5551	66,000
Casein Kinase II	100U	V5621	22,000
Casein Kinase I	100U	V5631	22,000
DNA-Dependent Protein Kinase	2500U	V5811	23,000
<b>ホスファターゼ</b>			
Protein Phosphatase-2A	25U	V6311	59,000
Protein Phosphatase-2B	10U	V6361	20,000
<b>抗体</b>			
Anti-ACTIVE® MAPK pAb, Rabbit, (pTEpY)	40µl	V8031	65,000
Anti-pT <sup>83</sup> MAPK pAb, Rabbit	50µl	V8081	65,000
Anti-ERK 1/2 pAb, Rabbit	40µl	V1141	35,000
Anti-ACTIVE® JNK pAb, Rabbit, (pTPpY)	40µl	V7931	65,000
	120µl	V7932	130,000
Anti-ACTIVE® p38 pAb, Rabbit, (pTGpY)	100µl	V1211	65,000
Anti-ACTIVE® MAPK Family Sampler	1 セット	V3281	46,000
Anti-ACTIVE® CaM KII pAb, Rabbit, (pT <sup>286</sup> )	40µl	V1111	65,000
Anti-pS <sup>473</sup> Akt pAb	40µl	G7441	45,000

製品名	サイズ	カタログ番号	価格 (¥)
<b>キナーゼ&amp;ホスファターゼ アッセイシステム</b>			
<b>キナーゼアッセイ (蛍光)</b>			
ProFluor® PKA Assay	4 プレート分	V1240	127,000
	8 プレート分	V1241	220,000
ProFluor® Src-Family Kinase Assay	4 プレート分	V1270	127,000
	8 プレート分	V1271	220,000
PepTag® Non-Radioactive PKC Assay	120 回分	V5330	53,000
PepTag® Non-Radioactive cAMP-Dependent Protein Kinase Assay	120 回分	V5340	53,000
<b>キナーゼアッセイ (RI)</b>			
SignaTECT® cdc2 Protein Kinase Assay System	96 回分	V6430	50,000
SignaTECT® Protein Tyrosine Kinase (PTK) Assay System	96 回分	V6480	59,000
SignaTECT® Protein Kinase C (PKC) Assay System	96 回分	V7470	50,000
SignaTECT® cAMP-Dependent Protein Kinase (PKA) Assay System	96 回分	V7480	50,000
SignaTECT® DNA-Dependent Protein Kinase Assay System	96 回分	V7870	50,000
SignaTECT® Calcium/Calmodulin-Dependent Protein Kinase (CaM KII) Assay System	96 回分	V8161	50,000
<b>ホスファターゼアッセイ (蛍光)</b>			
ProFluor® Tyrosine Phosphatase Assay	4 プレート分	V1280	127,000
	8 プレート分	V1281	220,000
ProFluor® Ser/Thr Phosphatase Assay	4 プレート分	V1260	127,000
	8 プレート分	V1261	220,000
<b>ホスファターゼアッセイ (発色)</b>			
Serine/Threonine Phosphatase Assay System	96 回分	V2460	52,000
Tyrosine Phosphatase Assay System	96 回分	V2471	52,000
<b>プロテアーゼアッセイ</b>			
<b>プロテアーゼアッセイ (蛍光)</b>			
Protease-Glo™ Assay	10 回分	G9451	180,000
Calpain-Glo™ Protease Assay	10ml	G8501	60,500
	50ml	G8502	247,500
DPPIV-Glo™ Protease Assay (ジバプチジルヘプテチダーゼ IV)	10ml	G8350	60,500
	50ml	G8351	247,500
<b>成長因子</b>			
Brain-Derived Neurotrophic Factor (rhBDNF)	5µg	G1491	54,000
Neurotrophin-3 (rhNT-3)	5µg	G1501	54,000
Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor (rhGDNF)	5µg	G2781	54,000
Epidermal Growth Factor (rhEGF)	100µg	G5021	22,000
Fibroblast Growth Factor, Basic (rhFGF, Basic)	25µg	G5071	42,000
Insulin-Like Growth Factor-I (rhIGF-I)	25µg	G5111	43,000
Nerve Growth Factor, 2.5S (mNGF, 2.5S)	100µg	G5141	49,500
Tumor Necrosis Factor-α (rhTNFα)	10µg	G5241	44,000
Interleukin-4 (rhIL-4)	5µg	G5591	32,000

日本語 Web site : [www.promega.co.jp](http://www.promega.co.jp)

テクニカルサービス • Tel. 03-3669-7980 / Fax. 03-3669-7982 • E-Mail : [prometec@jp.promega.com](mailto:prometec@jp.promega.com)

# プロメガ株式会社

本社 〒103-0011  
東京都中央区日本橋大伝馬町14-15 マツモトビル  
Tel. 03-3669-7981 / Fax. 03-3669-7982

大阪事務所 〒532-0011  
大阪市淀川区西中島6-8-8 花原第8ビル704号室  
Tel. 06-6390-7051 / Fax. 06-6390-7052

※製品の仕様、価格については2009年10月現在のものであり予告なしに変更することがあります。

販売店：