

RealTime-Glo™ & CellTiter-Glo® multiplex assay

INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS G9711, G9712, G9713, G7570, G7571, G7572 and G7573

1. 細胞培養表面処理済みの 96well 白クリアボトムプレートもしくはソリッドプレートに任意の細胞数で 50µL ずつ播種する。
2. また、バックグラウンドとして、細胞を含まない培地だけの well も準備する。
3. 翌日、下記の表を参考に RealTime-Glo™ とテスト化合物を含む培地を調製する。

Component	volume	x サンプル数	= 合計
培地, 2x テスト化合物	49.8 µL		
MT Cell Viability Substrate	0.1 µL		
NanoLuc® Enzyme	0.1 µL		
Final volume per sample	50 µL		

4. 50µL の RealTime-Glo™ 試薬とテスト化合物を含む培地を細胞に添加する。
5. 37°C インキュベーターにて、10 分以上培養する。
6. 任意のタイムポイントにて、発光測定する（72 時間まで繰り返し測定可能）。
7. RealTime-Glo™ の発光測定終了後、培養プレートを 37°C インキュベーターに戻しておく。
8. CellTiter-Glo® 試薬を調製する：
CellTiter-Glo® Buffer を室温で融解させる。CellTiter-Glo® Substrate を室温に戻す。
CellTiter-Glo® Buffer を CellTiter-Glo® Substrate のボトルへ添加する。ボトルを穏やかに攪拌して内容物を混合する。
9. 培養プレートをインキュベーターより取りだし、各 well に 100µL の CellTiter-Glo® 試薬を添加する。
10. 細胞を溶解させるためにシェーカーで 2 分間攪拌する。
11. 発光シグナルを安定化させるために、室温で 10 分間プレートを静置する。
12. 発光測定する。

(その他の情報)

- RealTime-Glo™ は細胞の種類により、細胞数の測定範囲が異なります。
このため、RealTime-Glo™ のマニュアルを参考に、あらかじめ予備実験を行い、測定できる細胞数を決定してください。
- ステップ 1 で細胞を 100uL ずつ播種し、ステップ 2 の前に培地を 50uL 除去することも可能です。

この Quick Protocol は TM431、TM288 を基に作成された簡易型のプロトコルです。
最新、詳細なプロトコルについては www.promega.com/protocols/ をご覧ください。