

RealTime-Glo™ & ONE-Glo™ multiplex assay

INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS G9711, G9712, G9713, E6110, E6120 and E6130

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 50 μ L ずつ播種する。
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。
2. 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 μ L		
MT Cell Viability Substrate	0.1 μ L		
NanoLuc® Enzyme	0.1 μ L		
Final volume per sample	50 μ L		

3. 50 μ L 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。
4. 37°C インキュベーターにて、10 分以上培養する。
5. 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）。
6. 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。
7. ONE-Glo™ Reagent の調製：
ONE-Glo™ Luciferase Assay Buffer と ONE-Glo™ Luciferase Assay Substrate を室温に戻す。
ONE-Glo™ Luciferase Assay Substrate のボトルに ONE-Glo™ Luciferase Assay Buffer を全量移す。
穏やかに転倒混和し、ONE-Glo™ Luciferase Assay Substrate を溶かす。
8. 培養プレートをインキュベーターより取りだし、100 μ L の ONE-Glo™ Reagent を各 well に加える。
9. 室温にて、少なくとも 3 分間のインキュベーションを行い、細胞を溶解させる。
10. 発光シグナルを測定する。

(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 100 μ L ずつ播種し、ステップ 2 の前に培地を 50 μ L 除去することも可能です。

この Quick Protocol は TM431、TM292 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。