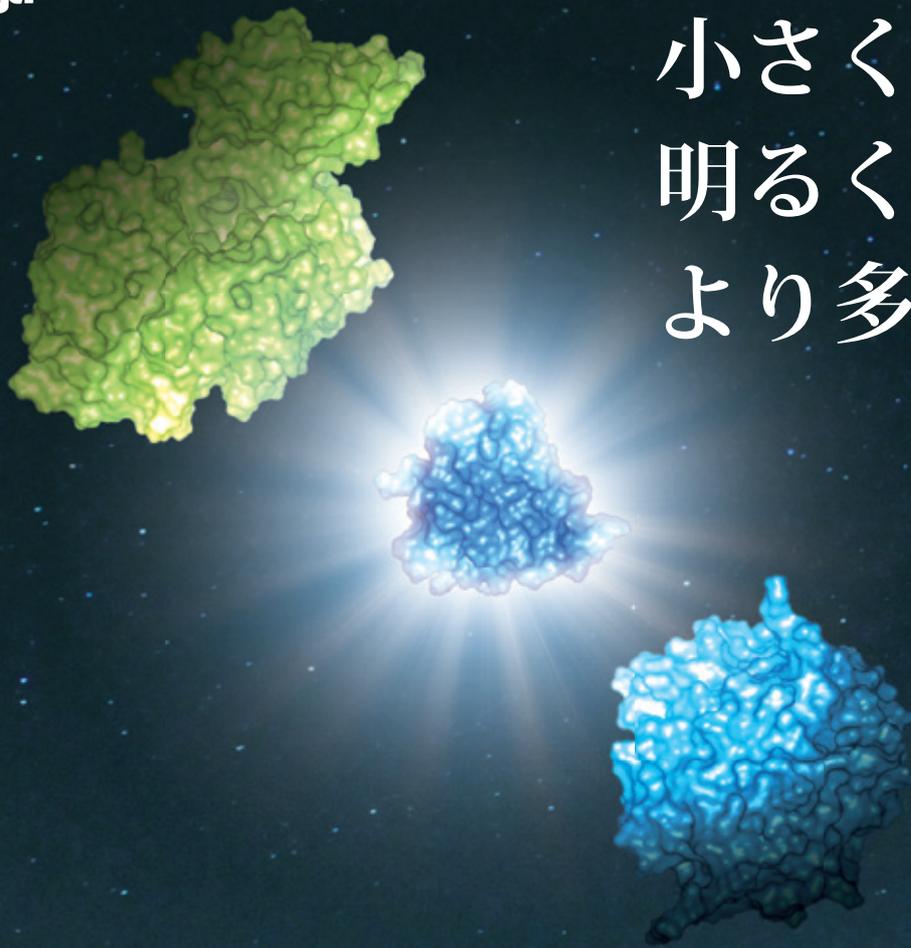


小さく、
明るく、
より多才に。

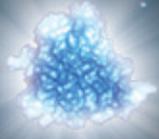


ハイエンド・ルシフェラーゼレポーター

NanoLuc™ Luciferase Technology

ルシフェラーゼテクノロジー、次なる展開へ…

- **高レベル発光**：ホタルルシフェラーゼ (luc2) よりも 80 倍～ 240 倍のシグナル
- **低分子ルシフェラーゼ**：遺伝子やタンパク質サイズに制約がある用途にも対応
(例：発光タグとしてのタンパク質との融合、ウイルスパッケージング)
- **長時間発光**：半減期約 2 時間の長時間発光タイプ
- **安定**：物理的な安定性が高く、スクリーニングにおける偽陽性が最低限
- **分泌アッセイにも対応**：ベクターにより分泌型アッセイと細胞内型（標準型）アッセイを選択可能
- **多様なアプリケーション**：標準的なレポーターアッセイはもちろん
発光タグとしてイメージングや BRET など幅広い用途に使用可能

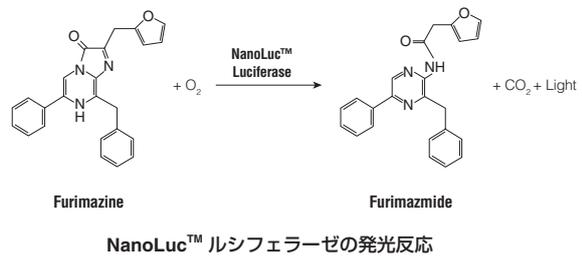


NanoLuc™ テクノロジー

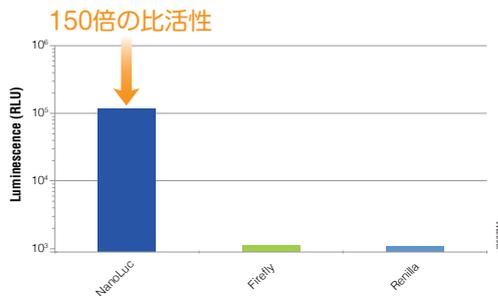
NanoLuc™ (Nluc) はトゲオキヒドシエビ (*Oplophorus gracilirostris*) 由来のルシフェラーゼで、発光レポーターとして最適なパフォーマンスを発揮するために改変された分子量の小さな発光酵素 (19.1kDa) です。このルシフェラーゼはホタルやウミシイタケのものより約 150 倍明るく、高レベルの発光を長時間維持するための新規な基質 furimazine を用いて測定します。発光反応は ATP 非依存性で、最大の感度を得るためにバックグラウンド発光が抑えられるようにデザインされています。NanoLuc™ ルシフェラーゼ遺伝子を含むレポーターベクターは複数のタイプを用意しており、実験目的に合うように構成されています。発光値は Nano-Glo™ Luciferase Assay Reagent で測定した場合、6 桁以上のダイナミックレンジを有しており、シグナルの半減期は 2 時間以上です。

NanoLuc™ ルシフェラーゼの特性

- 非常に小さい、単量体酵素 (171 アミノ酸 ; 513bp)
- ATP 非依存性
- 高い熱安定性 ($T_m = 60^\circ\text{C}$)
- 広範な pH 幅で活性を保持 (pH 6 – 8)
- 翻訳後修飾、ジスルフィド結合がない
- 細胞内で均一に分布
- 蛍光スペクトルが生物発光共鳴エネルギー転移 (BRET ; $\lambda_{\text{max}} = 465 \text{ nm}$) に最適

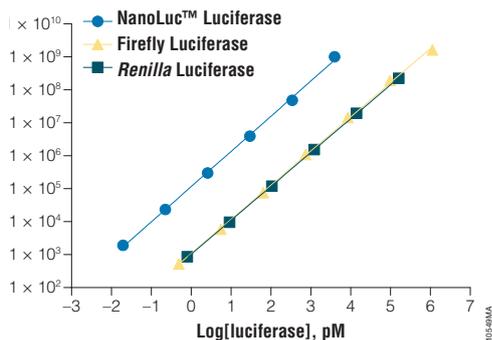
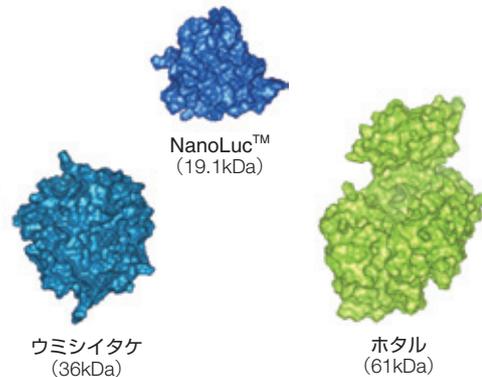


高発光：チャレンジングな実験に最適！



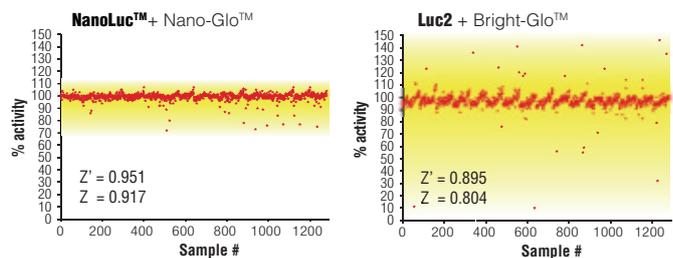
3 種類ルシフェラーゼ酵素 (50 attomoles) からの発光測定

低分子量：小さいほうが断然有利



NanoLuc™、ホタルおよびウミシイタケルシフェラーゼアッセイの感度の比較

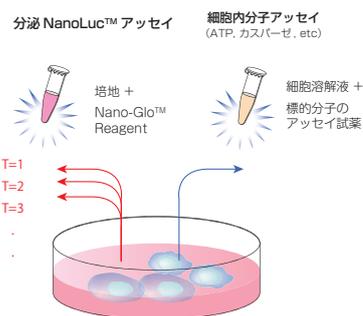
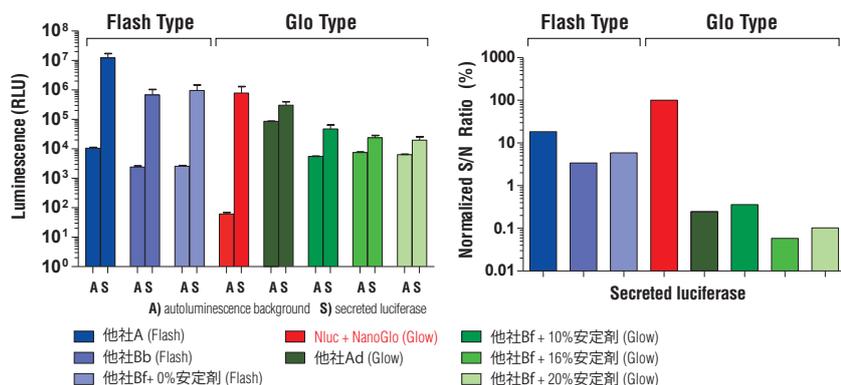
安定：活性阻害を受けにくく HTS にマッチ！



NanoLuc™ およびホタルルシフェラーゼの化合物による阻害
各精製ルシフェラーゼ酵素を 1280 種類の化合物とインキュベーションし、Nano-Glo™ および Bright-Glo™ で発光を測定した。

高い S/N 比が得られる真の分泌型アッセイ

NanoLuc™ は他社の分泌型ルシフェラーゼに比べ自己発光が飛躍的に抑えられているため、高い S/N 比が得られます。分泌型のアッセイは同一サンプルプレートにおける経時的なアッセイやマルチアッセイなど利便性に優れますが、これまで自己発光によるバックグラウンドが大きな課題でした。NanoLuc™ はグロータイプの発光（長時間発光）を示しますが、他社のフラッシュタイプの光と同等の高い発光レベルを示すとともに、バックグラウンドが最小限に抑えられているため、分泌型の利点を最大限発揮させることができます。



典型的な分泌型 NanoLuc™ アッセイの概要

レポーターアッセイではありません！

NanoLuc™ は小さな発光酵素なので融合タンパク質の作成あるいはウイルスへのパッケージングを容易にし、イメージング、センサーの開発などにも応用することができます。レポーターアッセイでは通常レポーター酵素単体の活性を調べてその発現量の変化を調べるため大きさはそれほど問題になりません。しかし、ウイルスへのパッケージングや標的タンパク質と融合させイメージングやセンサーの作成を行う場合は分子量が小さいことに大きなメリットがあり、さらに発光量が高ければ標識タンパク質やセンサータンパク質の分子数を抑え、生体機能に与える影響を最小限にとどめることができます。万能タグである HaloTag® と NanoLuc™ を組み合わせた幅広いアプリケーションも考案されています。イメージング用の基質についてはお問合せください。

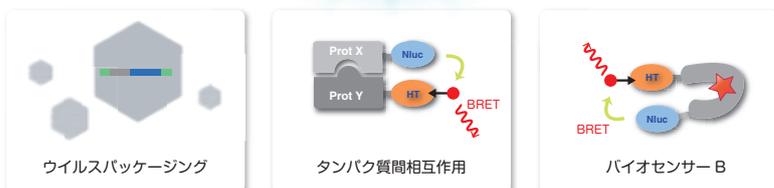
NanoLuc™ Nluc

- ✔ レポーター
- ✔ 発光ドナー (BRET)
- ✔ 発光タグ
- ✔ センサー

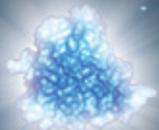


HaloTag® HT

- ✔ 蛍光アクセプター (BRET)
- ✔ 蛍光タグ
- ✔ 捕捉・固定用タグ



*HaloTag® は低分子リガンドと特異的に共有結合するため、蛍光リガンドやリガンドをコーティングした担体を用いてイメージングや精製など幅広いアプリケーションに用いることができます。HaloTag® 蛍光リガンド、担体、キット、ヒト ORF クローンなど HaloTag® テクノロジーの詳細については www.promega.co.jp/halotag/ をご覧ください。



NanoLuc™ ベクター

NanoLuc™ ルシフェラーゼはレポーターアッセイで使用するためにデザインされた様々な構成の NanoLuc™ 遺伝子（標準型 Nluc [pNL x.1: 細胞内でのタンパク質半減期 > 6 時間]、不安定型 NlucP [pNL x.2: 細胞内でのタンパク質半減期 約 10-30 分]、分泌型 secNluc [pNL x.3: 培地中でのタンパク質半減期 > 4 日]）がご利用いただけます。pNL は最大の発光量が得られます。NlucP には PEST タンパク質不安定化ドメインが付加されているため、迅速で応答性の高いレポーター実験が可能です（右図参照）。secNluc には IL-6 分泌シグナル配列が付加されており、培地中に分泌された NanoLuc™ は細胞を破壊することなく測定することができます。

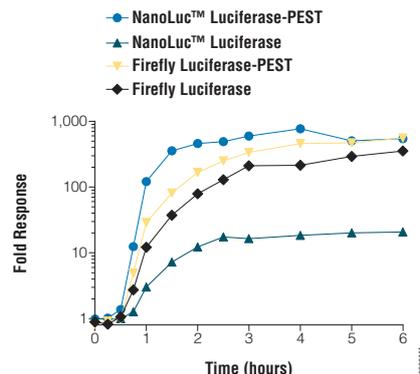
各 pNL ベクターの用途

- pNL 1.x : プロモーター領域のクローニング
- pNL 2.x : プロモーター領域のクローニング + 安定細胞株の構築 (ハイグロマイシン耐性遺伝子を含むベクター)
- pNL 3.x : 応答エレメントや結合サイトのクローニング (最小限プロモーター (minP) を含むベクター)
- 標準型および分泌型 Nluc 用のコントロールプラスミドも用意 (pNL1.1.CMV, pNL1.3.CMV)

pNL ベクターシリーズは pGL4 の基本骨格を用いているため既存の pGL4 ベクターからのサブクローニングが容易です。この骨格は数多くの転写因子結合サイトやその他の潜在的な調節エレメントを除去することにより変異的な発現を低減するようデザインされています。Nluc 遺伝子はコドンの最適化が行われ、多くの潜在的な調節エレメント、その他の不要な配列（例：一般的な制限酵素サイト）が除かれています。

※ベクター購入における注意点：

NanoLuc™ Vector (pNL) 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ご確認いただく必要があります。ライセンスプログラムに関しては www.promega.co.jp/license/ をご覧ください。



不安定型 NlucP の高い応答性

NF-κB 応答エレメントを含む各種コンストラクトを HEK293 に導入し rhTNFα で処理した。

製品名	サイズ	カタログ番号	価格 (¥)
pNL1.1 [Nluc] Vector	20µg	N1001	64,000
pNL1.2 [NlucP] Vector	20µg	N1011	64,000
pNL1.3 [secNluc] Vector	20µg	N1021	64,000
pNL3.1 [Nluc/minP] Vector	20µg	N1031	64,000
pNL3.2 [NlucP/minP] Vector	20µg	N1041	64,000
pNL3.3 [secNluc/minP] Vector	20µg	N1051	64,000
pNL2.1 [Nluc/Hygro] Vector	20µg	N1061	64,000
pNL2.2 [NlucP/Hygro] Vector	20µg	N1071	64,000
pNL2.3 [secNluc/Hygro] Vector	20µg	N1081	64,000
pNL1.1.CMV [Nluc/CMV] Vector	20µg	N1091	64,000
pNL1.3.CMV [secNluc/CMV] Vector	20µg	N1101	64,000
pNL3.2.NF-κB-RE [NlucP/NF-κB-RE/Hygro] Vector	20µg	N1111	64,000

Nano-Glo™ アッセイ試薬

Nano-Glo™ Luciferase Assay Reagent は NanoLuc™ ルシフェラーゼ専用のアッセイシステムです。

Nano-Glo™ Luciferase Assay System は細胞溶解剤を含む 1 種類の試薬を加えるだけのホモジニアスアッセイ法を採用しており、一般的な培地で使用した場合、半減期約 2 時間におよぶグロタイプ発光シグナルが得られます。NanoLuc™ ルシフェラーゼを発現する細胞あるいは NanoLuc™ ルシフェラーゼが分泌された培地に直接使用することができます。

製品名	サイズ	カタログ番号	価格 (¥)
Nano-Glo™ Luciferase Assay System	10ml	N1110	19,500
	100ml	N1120	124,000
	10x10ml	N1130	148,000
	10x100ml	N1150	お問い合わせください

最新情報については www.promega.co.jp/nanoluc/ をご覧ください。

テクニカルサービス • Tel. 03-3669-7980 / Fax. 03-3669-7982 • E-Mail : 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
URL : 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

※製品の仕様、価格については2012年6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