

GloMax® ユーザーのためのプロトコルガイド

GloMax® Protocol Guide

会員番号 : _____

クラブ MAX 会員の登録はこちら
www.promega.co.jp/kikiclub/



Protein Interaction
Cell Based Assay

Target Protein Assay

Dual-Luciferase®

ELISA

MTT

Reporter

ADCC Bioassay

NanoLuc®

Target Cell Killing

Inflammation

Lumit™

BRET

HiBiT

Target Engagement

T-Cell Activation

Ver. 2.0



プロメガ株式会社

プレートリーダーについて

試験管を用いた酵素活性測定など生化学的な反応や培養皿を用いた細胞の応答をより微細化/多検体化して効率よく測定するための機器がプレートリーダーです。しかし、近年では 96 ウェルから 384 や 1536 ウェルでの測定ニーズも増え、これらのフォーマットに対応するには機器の検出感度はもとより、強力なシグナルが得られる試薬との組み合わせが必須であり、プロメガの GloMax[®] と発光試薬はこれらのニーズに最も適応する進化したプレートベースのアッセイシステムと言えます。特にプロメガが得意とする発光（生物発光）法をベースとするアッセイは、これまでホタルルシフェラーゼによるレポーターアッセイを代表とするように簡便な操作性と高感度検出が特長です。

● GloMax[®] アプリケーションリスト

アプリケーション	サンプル形態*	発光	蛍光	発色	BRET	ページ
細胞生死						
細胞増殖・生存性試験 [MTT/ MTS] (2D / 3D 培養)	細胞	○	○	○		4
細胞死・毒性試験 (ネクロシス / 細胞膜傷害)	細胞	○	○	○		5
細胞死 (ターゲットセルキリング / 細胞媒介性細胞傷害)	細胞 G	○				6
細胞死メカニズム (アポトーシス)	細胞	○	○			7
細胞死メカニズム (炎症/パイロトーシス)	細胞	○				8
細胞死メカニズム (免疫原性細胞死/ 細胞外 ATP の測定)	細胞	○				9
マルチアッセイ (ネクロシス + 生存性 他) <マルチ>	細胞	○	○			10
細胞応答						
エネルギー代謝、代謝物測定 (グルコース、アミノ酸、脂質の代謝) <マルチ>	細胞	○				11
酸化・還元測定 (ROS, GSH, NADH, NADPH)	細胞	○				13
薬物代謝活性測定 (P450)	細胞	○				14
オートファジーフラックス測定	細胞 G	○				15
プロテアソーム活性測定	細胞	○				16
エフェクター細胞活性 (ADCC, T 細胞活性化)	細胞 G	○				17
ウイルス感染・細胞融合	細胞 G	○				18
細胞内分子間相互作用						
細胞内 タンパク質：タンパク質相互作用検出 (NanoBRET [™] , NanoBiT [®])	細胞 G	○			○	19
細胞内 タンパク質：低分子相互作用検出 (NanoBRET [™] Target Engagement)	細胞 G				○	20
In Vitro 分子間相互作用						
In Vitro タンパク質：タンパク質相互作用検出 (Lumit [™] Anti-Tag)	in vitro	○				21
細胞内 標的タンパク質発現・分解						
標的タンパク質 モニタリング (HiBiT タグ)	細胞 G	○				22
セルベース免疫アッセイ (Lumit [™])	細胞	○				23
セルベース ELISA	細胞			○		24
シグナル伝達 & タンパク質修飾						
リン酸化 (修飾) タンパク質定量 (Lumit [™])	細胞 G	○				25
プロテインキナーゼ活性測定	in vitro	○				26
cAMP リアルタイムアッセイ / エンドポイントアッセイ	細胞 (G :リアルタイムのみ)	○				27
エピジェネティクス関連酵素活性	in vitro / 細胞	○				28
転写活性 (レポーターアッセイ)						
レポーターアッセイ (高感度 & 標準) <デュアル>	細胞 G	○				29
レポーターアッセイ (高感度 & 標準) <シングル & リアルタイム>	細胞 G	○				30
タンパク質 & 核酸定量						
タンパク質定量 (Bradford Assay / BCA Assay)	細胞			○		31
2 本鎖 DNA 定量 for NGS (QuantiFluor)	in vitro		○			31

*G：遺伝子導入あるいは遺伝子改変細胞を使用

*本アプリケーションガイドには、プロメガ以外のアッセイ試薬が必要な場合も含まれています。

*各試薬・アプリケーションの詳細な使用方法・取扱上の注意事項につきましては、試薬に添付されている説明書や文献などを参照下さい。

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の“カタログ番号”または“資料番号”で検索ください。 >

● GloMax® プリインストールプロトコル リスト

※GloMax® Discover, Explorer または Navigator にプリインストールされているプロトコルのリストです。

プロトコル (プリインストール)	測定モード	Discover	Explorer	Navigator	ページ
ADCC Reporter Bioassay	発光	○	○	○	17
ADP-Glo	発光	○	○	○	26
ApoLive-Glo	発光/蛍光	○	○		*
Apo-ONE	蛍光	○	○		7
ApoTox-Glo	発光	○	○		*
Autophagy HiBIT Reporter Assay	発光	○	○	○	15
BacTiter-Glo	発光	○	○	○	*
BCA Protein Assay (Abs 560)	発色	○	○		31
Bio-Glo	発光	○	○	○	*
Bradford Assay (Abs 600)	発色	○	○		31
BRET: NanoBRET 618	BRET	○			19,20
BRET: Renilla / YFP	BRET	○			*
Bright-Glo	発光	○	○	○	*
cAMP-Glo	発光	○	○	○	27
Caspase-Glo	発光	○	○	○	7, 8
CellTiter-96 AQ ONE	発色	○	○		4
CellTiter-Blue	蛍光/発色	○	○		4
CellTiter-Fluor	蛍光	○	○		4
CellTiter-Glo	発光	○	○	○	4
CellTox-Green	蛍光	○	○		5
Chroma-Glo	発光	○	○		*
Cholesterol/Cholesterol Ester-Glo	発光	○	○	○	11
CytoTox-Fluor	蛍光	○	○		*
CytoTox-Glo	発光	○	○	○	5
CytoTox-ONE	蛍光	○	○		*
Dual-Glo / Dual Luciferase Assay	発光	○	○	○	29
ELISA (Abs 450)	発色	○	○		24
FRET: Coumerin / Fluorescein Z-LYTE	FRET	○			*
GFP protein quantitation	蛍光	○	○		*
GloSensor-cAMP	発光	○	○	○	27
Glucose Uptake-Glo	発光	○	○	○	11
Glycerol-Glo	発光	○	○	○	11
GTPase-Glo	発光	○	○	○	*
Kinase Selectivity Profiling System	発光	○	○		*
Kinase-Glo	発光	○	○	○	*
Lactate-Glo	発光	○	○	○	11
LDH-Glo	発光	○	○	○	5
Luciferase Assay System	発光	○	○	○	*
Mitochondrial ToxGlo	発光/蛍光	○	○		*
MTase-Glo	発光	○	○	○	28
MultiTox-Fluor	蛍光	○	○		*
MultiTox-Glo	発光/蛍光	○	○		*
NAD(P)H-Glo	発光	○	○	○	*
NAD/NADH-Glo	発光	○	○	○	13
NADP/ NADPH-Glo	発光	○	○	○	13
NanoDLR	発光	○	○	○	29
Nano-Glo	発光	○	○	○	30
Nano-Glo Endurazine	発光	○	○		30
Nano-Glo Live Cell Assay System	発光	○	○	○	30
Nano-Glo Vivazine	発光	○	○		30
ONE-Glo	発光	○	○	○	30
ONE-Glo + Tox	発光/蛍光	○	○		*
P450-Glo	発光	○	○	○	14
QuantiFluor dsDNA	蛍光	○	○		*
QuantiFluor ONE dsDNA	蛍光	○	○		31
QuantiFluor RNA	蛍光	○	○		*
QuantiFluor ssDNA	蛍光	○	○		*
RealTime-Glo	発光	○	○		4
RealTime-Glo Annexin V	発光	○	○	○	7
RealTime-Glo Extracellular ATP	発光	○	○	○	9
Renilla Luciferase Assay System	発光	○	○	○	*
Renilla-Glo Luciferase Assay System	発光	○	○	○	*
ROS-Glo	発光	○	○	○	13
Steady-Glo	発光	○	○	○	*
Succinate-Glo	発光	○	○	○	28
Triglyceride-Glo	発光	○	○	○	11
Water-Glo	発光	○	○	○	*

New

New

New

New

New

※プリインストールされているプロトコルはソフトウェアのバージョン等により異なる場合があります。最新のプロトコル情報およびソフトウェアについては www.promega.jp より "GloMax Preloaded" で検索ください。

* ページの表示が無いものについては www.promega.jp をご覧くださいください。

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の "カタログ番号" または "資料番号" で検索ください。 >

細胞増殖・生存性試験 2D / 3D 培養) [発光] [蛍光] [発色]

概要：

細胞の増殖や生存性はライフサイエンス実験において重要であり、薬剤スクリーニングなどでも基本となるパラメーターで、細胞への刺激（薬剤や培養条件）に対する応答をシンプルな表現型である細胞の増減として検出します。この細胞数あるいは生存活性はこれまで様々な方法で測定され、トリチウム標識チミジン DNA に取り込ませる方法などが利用されてきましたが、近年では非放射性標識でも細胞内の活性を生存マーカー（還元能、ATP など）として非常に高感度なアッセイが行えるようになりました。さらに細胞溶解力を強化した3次元細胞培養に対応したものや1つのサンプルセットで経時的な測定ができる試薬も登場しています。

生存マーカー	測定モード	特長	試薬（カタログ番号：最小サイズ）
ATP	発光	グローバルスタンダード（最高感度）	CellTiter-Glo® 2.0 (G9241)
		グローバルスタンダード（最高感度）、3D 培養対応	CellTiter-Glo® 3D (G9681)
還元能	発光	リアルタイム（経時的測定）、3D 培養対応	RealTime-Glo™ MT (G9711)
	発色 (490nm)	実績豊富（従来法）、色素溶解ステップなし	MTS [CellTiter96® AQueous One] (G3582)
	発色 (570nm)	実績豊富（従来法）	MTT [CellTiter96®] (G4000)
	蛍光 (Ex/Em:560/590nm)	廉価	AlamarBlue [CellTiter-Blue®] (G8080)
生プロテアーゼ	蛍光 (Ex/Em:400/505nm)	発光アッセイとの併用に最適（マルチ）	CellTiter-Fluor™ (G6080)

◀ おすすめポイント
“実績最多”

◀ おすすめポイント
“リアルタイム”

◀ おすすめポイント
“マルチアッセイ”

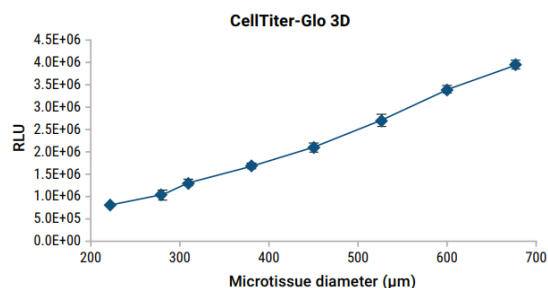
操作概要：（例）CellTiter-Glo® 2.0

- 細胞を培養し、薬剤などの刺激を与える
- CellTiter-Glo® を添加（培地除去 & 洗浄不要）
- 10 分後に GloMax® で測光

[GloMax® で “CellTiter-Glo” プロトコルを選択]

ここがすごい！

- 発光法による高感度なホモジニアスアッセイ
- 3D 培養 および リアルタイム 対応の試薬も
- 他の細胞アッセイとのマルチアッセイも可能



微小組織サイズに比例する発光レベル

細胞を 3.2×10^5 個/ml から 2.5×10^3 個/ml に段階希釈し、GravityPLUS™ 3D Culture and Assay のマニュアルに従い培養した。CellTiter-Glo® 3D Reagent (100μl) を加え 10 分後に測定し、GloMax® Discover System で測定した。

プロトコル詳細：

- 発光 ATP アッセイ (CellTiter-Glo® 2.0 Assay) [資料番号 TM403]
- 発光 ATP 3D 培養対応 アッセイ (CellTiter-Glo® 3D Cell Viability Assay) [資料番号 TM412]
- 発光 還元能 リアルタイムアッセイ (RealTime-Glo™ MT Cell Viability Assay) [資料番号 TM431]
- 発色 MTS アッセイ (CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay) [資料番号 TB245]
- 発色 MTT アッセイ (CellTiter 96® Non-Radioactive Cell Proliferation Assay) [資料番号 TB112]
- 蛍光 アラマーブルー アッセイ (CellTiter-Blue™ Cell Viability Assay) [資料番号 TB317]
- 蛍光 生細胞プロテアーゼ アッセイ (CellTiter-Fluor™ Cell Viability Assay) [資料番号 TB371]

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の “カタログ番号” または “資料番号” で検索ください。 >

細胞死・毒性試験（ネクローシス / 細胞膜傷害） [発光] [蛍光] [発色]

概要：

細胞毒性は薬効（がん標的薬）あるいは薬剤の副作用などを調べる際に利用されます。通常は細胞毒性（細胞膜の傷害）を検出するために細胞外に漏出した細胞内酵素あるいは核酸などをマーカー（LDH や死プロテアーゼ、DNA）として測定します。漏出したマーカーを選択する上で、感度はもとよりマーカーの半減期の長さなどもポイントになります。プロメガの最新の LDH 測定試薬 LDH-Glo[®] は発光法によるアッセイシステムで、培地 2 μ l を分取し、さらに 50 倍に希釈して測定できるほどの高い感度を有しています。また、複数のタイムポイントで培地を測定すれば経時的なリアルタイムアッセイも可能です。一方、CellTox Green は細胞死にともない細胞外に漏れだす DNA を蛍光色素で染めるアッセイ方法です。その他、新規な死プロテアーゼをマーカーとして測定する発光アッセイや LDH を検出する発色アッセイも取り揃えています。

死細胞マーカー	測定モード	特長	製品名（カタログ番号：最小サイズ）
LDH	発光	高感度/リアルタイム/マルチ	LDH-Glo [™] (J2380)
	発色 (490nm)	実績豊富、廉価	CytoTox96 [®] (G1780)
DNA	蛍光 (Ex/Em:513/532nm)	高感度/リアルタイム/マルチ	CellTox [™] Green (G8741)
死プロテアーゼ	発光	高感度/マルチ	CytoTox-Glo [™] (G9290)
HIBIT (人工マーカー)	発光	高感度（細胞媒介性細胞傷害）	6 ページ参照

◀ おすすめポイント
“マルチ&リアルタイム”

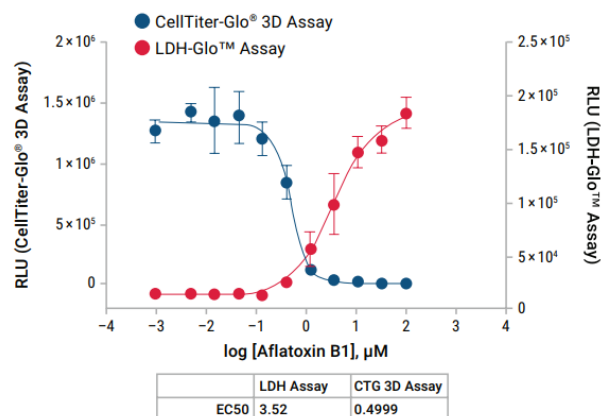
◀ おすすめポイント
“蛍光 & リアルタイム”

操作概要：（例）LDH-Glo[™]

- ・ 培養細胞を化合物などで刺激
 - ・ 培地 2~5 μ l を分取
 - ・ Storage Buffer で希釈し、保存またはアッセイ
 - ・ LDH Detection Reagent を 1 : 1 で加える
 - ・ 30~60 分後に GloMax[®] で測光
- [GloMax[®] で “LDH-Glo” プロトコルを選択]

ここがすごい！

- ・ 培地たったの 2 μ l で高感度発光 LDH アッセイ
- ・ 残った培地や細胞を利用したマルチアッセイも！
- ・ 同じウェルの培地より複数のタイムポイントでアッセイ可能



LDH-Glo[™] Cytotoxicity Assay と CellTiter-Glo[®] 3D Cell Viability Assay のマルチアッセイ

ヒト肝臓マイクロティッシュを Aflatoxin B1 で 48 時間処理した。サンプルを 25 倍に希釈して、希釈サンプル 15 μ l に 15 μ l LDH Detection Reagent を加え 60 分後にアッセイした。さらに残ったマイクロティッシュサンプルに等量の CellTiter-Glo[®] 3D Reagent を添加して細胞生存性を測定した。

プロトコル詳細：

- ・ 発光 LDH アッセイ (LDH-Glo[™] Cytotoxicity Assay) [資料番号 TM548]
- ・ 発色 LDH アッセイ (CytoTox 96[®] Non-Radioactive Cytotoxicity Assay) [資料番号 TB163]
- ・ 蛍光 DNA 断片 アッセイ (CellTox[™] Green Cytotoxicity Assay) [資料番号 TM375]
- ・ 蛍光 死プロテアーゼ アッセイ (CytoTox-Glo[™] Cytotoxicity Assay) [資料番号 TB359]

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の “カタログ番号” または “資料番号” で検索ください。 >

細胞死 (ターゲットセルキリング / 細胞媒介性細胞傷害) [発光]

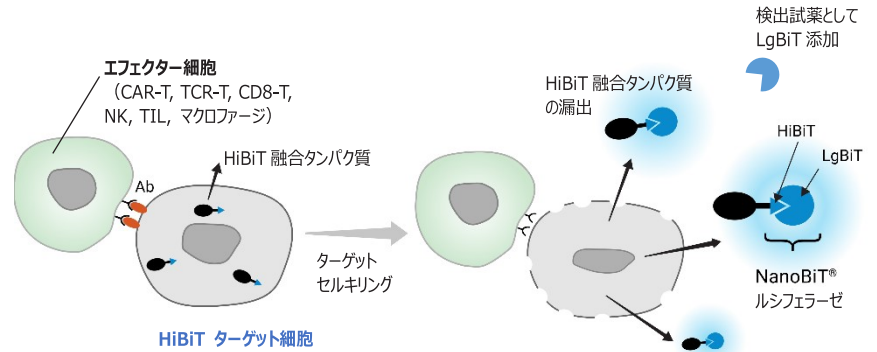
New

概要：

HiBiT TCK バイオアッセイプラットフォームは、モノクローナル抗体 (mAb)、二重特異性抗体、CAR-T 細胞などの様々な生物学的製剤によって誘導されるターゲット細胞への殺傷力を高感度かつ特異的に測定することができます。本測定法はシンプルなホモジニアスアッセイで、ターゲット細胞が溶解すると、明るい発光シグナルを生成し、標準的なルミノメーターを用いて測定することができます。

操作概要：

- 細胞傷害性のモノクローナル抗体やエフェクター細胞を、HiBiT 融合タンパク質を発現する HiBiT ターゲット細胞とともにインキュベート
- 細胞傷害により漏出した HiBiT 融合タンパク質を定量するために検出試薬を添加
- GloMax[®] を用いて発光を測定

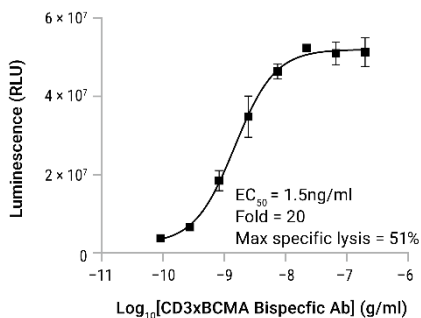


ここがすごい！

- ターゲット細胞の調製、洗浄など準備が不要
- 高感度：フローサイトメトリーなど従来法の数分の一の細胞数で十分な感度
- 一般的な免疫療法ターゲット (CD19、CD20、BCMA など) を発現する既製 HiBiT ターゲット細胞を用意
- ご要望に即した HiBiT ターゲット細胞のカスタム作成なども承ります。

HiBiT ターゲットセルキリング法と他法との比較

	HiBiT TCK	フローサイトメトリー	蛍光色素
作業時間(短さ)	◎	×	○
シグナル：ノイズ比	◎	—	×
分析の容易さ	◎	×	△



ターゲット細胞特異的な殺傷を検出する TDCC アッセイ

CD8+ T 細胞と HiBiT 発現ターゲット細胞および適切な Bispecific T Cell Engager (BiTE) を組み合わせ、18-24 時間培養後、NanoBiT[®] Extracellular Detection Reagent を加え、GloMax[®] Discover プレートリーダーで発光測定した。

HiBiT ターゲット細胞および HiBiT ターゲットキリングアッセイについては弊社までお問合せ下さい。

細胞タイプ	HiBiT ターゲット細胞*	選択的ターゲットの発現
ターゲット内在発現細胞		
B 細胞リンパ腫	Raji Cells	CD19, CD20, CD22, CD38
	Raji CD19-KO Cells	CD20, CD22, CD38
	Raji CD20-KO Cells	CD19, CD22, CD38
	Raji CD19/CD20-KO Cells	CD22, CD38
	Ramos Cells	CD19, CD20, CD22, CD38
	Ramos CD19-KO Cells	CD20, CD22, CD38
多発性骨髄腫	H929 Cells	BCMA
卵巣がん	OVCAR3 Cells	MSLN, 5T4, WT, HER2
	SKOV3 Cells	MSLN, 5T4, MUC16, HER2, PD-L1
乳房腺がん	SK-BR-3	HER2, EpCAM
肺がん	A549 Cells	EGFR
リンパ腫	U937 Cells	CD33, CLL-1
	T2 Cells	HLA-A2+
ターゲット外来発現細胞		
慢性骨髄性白血病	K562 Cells	N/A
	CD19 K562 Cells	CD19
	BCMA K562 Cells	BCMA
	Claudin 18.2 CHO-K1 Cells	Claudin 18.2
	CIITA K562 Cells	Various
チャイニーズハムスター卵巣	Membrane TNFα CHO-K1 Cells	Membrane TNFα
	SARS-CoV-2 S Protein CHO-K1 Cells	SARS-CoV-2 S Protein

※上記 HiBiT ターゲット細胞ラインナップは 2023 年 10 月時点でのものであり、予告なく変更することがありますので予めご了承ください。

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の“カタログ番号”または“資料番号”で検索ください。 >

細胞死メカニズム（アポトーシス） [発光] [蛍光]

概要：

アポトーシスは細胞死形態の一つとして長年研究され様々なマーカーを利用したアッセイ方法が開発され、がん標的薬のスクリーニングなどにも利用されてきました。中でもカスパーゼの有するプロテアーゼ活性により発光基質に付加された認識配列が切断されて生じる発光シグナルを測定する方法は、試薬を1度添加して測光するだけの簡便性によりスクリーニングなどに広く使用されています（Caspase-Glo®）。さらにアポトーシスマーカーとして細胞膜の外側に露出されるホスファチジルセリン（PS）をリアルタイムで測定する新しい試薬は経時的なアポトーシスシグナルを定量することができ、漏出するDNA（ネクローシスマーカー）を検出する蛍光試薬と組み合わせれば後期アポトーシスで起こる2次ネクローシスと他の細胞毒性イベントにより起こるネクローシスとを見分けることができます（RealTime-Glo™ Annexin V）。

アポトーシスマーカー	測定モード	特長	試薬（カタログ番号：最小サイズ）
PS/アネキシン V	発光	リアルタイム（経時的測定）	RealTime-Glo™ Annexin V (JA1000)
カスパーゼ 3/7		試薬を混ぜるだけ、 エンドポイント	Caspase-Glo® 3/7 (G8090)
カスパーゼ 8			Caspase-Glo® 8 (G8200)
カスパーゼ 9			Caspase-Glo® 9 (G8210)
カスパーゼ 3/7	蛍光 (Ex/Em:499/521nm)		Apo-ONE® (G7792)

◀ おすすめポイント
"リアルタイム & マルチ"

操作概要：RealTime-Glo™ Annexin V

- 細胞を培養し、薬剤 / アポトーシス誘導剤などの刺激を与える
- Detection Reagent を添加し、GloMax® で経時的にアポトーシスを測定（培地除去 & 洗浄不要）

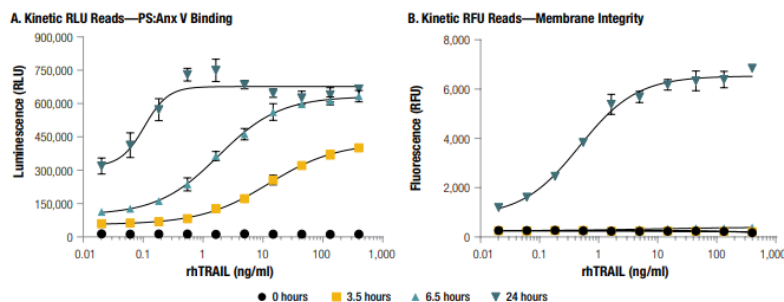
[GloMax® で "RealTime-Glo Annexin V" フロトコルを選択]

ここがすごい！

- 細胞表面の PS をマーカーとした発光リアルタイムアッセイ
- DNA 漏出マーカーと組合わせたマルチリアルタイム！
- その他のエンドポイントアッセイとのトリプルアッセイも可能

プロトコル詳細：

- 発光 PS:アネキシン V アッセイ (RealTime-Glo™ Annexin V Apoptosis Assay) [資料番号 TM507]
- 発光 カスパーゼ 3/7 アッセイ (Caspase-Glo® 3/7 Assay) [資料番号 TB323]
- 発光 カスパーゼ 8 アッセイ (Caspase-Glo® 8 Assay) [資料番号 TB332]
- 発光 カスパーゼ 9 アッセイ (Caspase-Glo® 9 Assay) [資料番号 TB333]
- 蛍光 カスパーゼ 3/7 アッセイ Apo-ONE® Homogeneous) [資料番号 TB295]



リアルタイムでのアネキシン V のホスファチジルセリン (PS:Anx) への結合と細胞膜完全性の欠失

rhTRAIL 希釈系列および RealTime-Glo™ Annexin V Apoptosis and Necrosis Assay Reagents 存在下で U937 細胞を 37°C/5% CO₂ でインキュベートした。GloMax® Discover で 0, 3.5, 6.5, および 24 時間後に測定し、バックグラウンドの発光、蛍光を差し引いて RLU (ホスファチジルセリンへのアネキシン V 結合: パネル A) および RFU (細胞膜の完全性: パネル B) として示した。時間の経過とともに増加する蛍光よりも早く時間依存的な発光の増加を観察し、アポトーシスの後の 2 次ネクローシスが起きていることが示唆された。

細胞死メカニズム（炎症/パイロトーシス）**[発光]**

概要：

Caspase-Glo® 1 Inflammasome Assay はインフラマソームの必須構成要素でカスパーゼのメンバーであるカスパーゼ-1 の活性を選択的に測定するシンプルでホモジニアスな発光法です。インフラマソームは多様な炎症性刺激により誘導されるタンパク質複合体です。自然免疫細胞は病原体やその他の危険信号に応答してインフラマソームを形成し、プロカスパーゼ-1 前駆体が活性化カスパーゼ-1 に変換されます。カスパーゼ-1 活性化の結果、サイトカイン IL-1 β および IL-18 のプロセッシングと放出が起こり、免疫原性の細胞死であるパイロトーシスとなります。Caspase-Glo® 1 assay は細胞内や培地中のカスパーゼ-1 活性を直接測定できる感度を有しています。

炎症マーカー	測定モード	特長	製品名（カタログ番号：最小サイズ）
カスパーゼ-1	発光	高感度発光アッセイ	Caspase-Glo® 1 Inflammasome Assay (G9951)

操作概要：Caspase-Glo® 1

- ・ “Caspase-Glo® 1 Reagent” および Ac-YVAD-CHO 阻害剤を添加した “Caspase-Glo® 1 YVAD-CHO Reagent” を調製（Ac-YVAD-CHO は 1 μ M でカスパーゼ-1 活性を 99% 阻害）
- ・ サンプルに “Caspase-Glo® 1 Reagent” または “Caspase-Glo® 1 YVAD-CHO Reagent” を添加
- ・ 室温で 1 時間以上インキュベートした後、GloMax® で測光

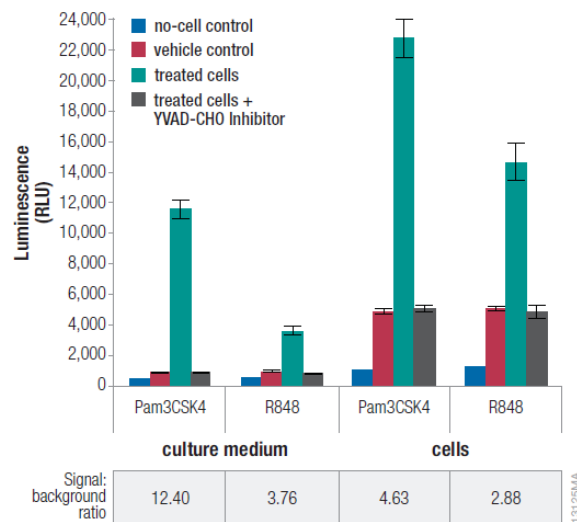
[GloMax® で “Caspase-Glo” プロトコルを選択]

ここがすごい！

- ・ 細胞、培地中の活性化カスパーゼ-1 のみを高感度に測定
- ・ ELISA やウェスタンなどに比べて非常に簡便
- ・ マルチプレックスアッセイも可能

プロトコル詳細：

- ・ 発光 カスパーゼ-1 アッセイ (Caspase-Glo® 1 Inflammasome Assay) [\[資料番号 TM456\]](#)



培地中の放出カスパーゼ-1 のモニタリングも可能な Caspase-Glo 1 Inflammasome Assay

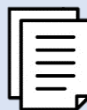
THP-1 細胞を培養し、PMA で分化させた後、Pam3CSK4 (2 μ g/ml) または resiquimod (R848, 20 μ M) で 2 時間処理した。培地を 2 つのプレートに分け (50 μ l/well)、Caspase-Glo 1 Reagent または Caspase-Glo 1 YVAD-CHO Reagent を添加し、測光した。

こんな製品も！

Lumit™ IL-1 β / IL-18 Immunoassay

- ・ 培養細胞上で直接測定する高速イムノアッセイ（簡便な “添加&測定” 方式）
- ・ ヒトまたはマウスの IL-1 β またはヒト IL-18 を検出可能
- ・ ルミノメーターによる高感度 発光検出

Lumit™ イムノアッセイについては 23 ページ参照



参考文献：

NLRP3 インフラマソームは医薬品開発におけるホット・ターゲットであり、炎症性免疫反応において重要な役割を果たしています。本研究では、報告された 5 つの NLRP3 阻害剤の効果をプロメガの Caspase-Glo® 1 Inflammasome Assay、Lumit™ IL-1 β Assay および NanoBRET™ Target Engagement Assay で評価し、ランク付けを行っています。

Teske *et al.*, Interrogating direct NLRP3 engagement and functional inflammasome inhibition using cellular assays, Cell Chemical Biology (2023)

細胞死メカニズム（免疫原性細胞死/細胞外 ATP の測定） [発光]



概要：

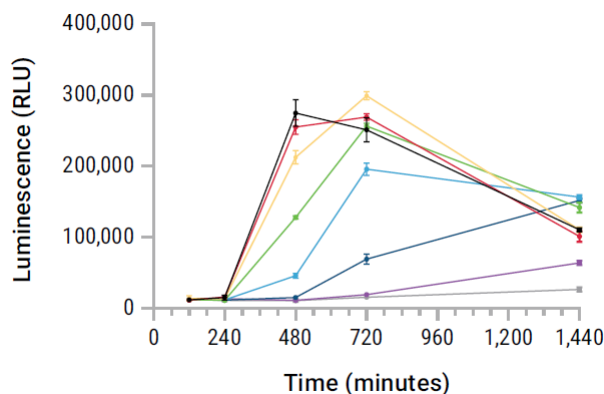
RealTime-Glo™ Extracellular ATP Assay は、死にかけている細胞、ストレスを受けた細胞、または活性化された細胞から放出される ATP のカインティックなモニタリング（経時的測定）用にデザインされた生物発光アッセイです。細胞外 ATP は、ダメージ関連分子パターン（DAMP）としても機能し、治療が免疫応答をもたらす特殊な形態の細胞死である免疫原性細胞死を誘発するかどうかを決定するための重要なバイオマーカーです。

免疫原性細胞死マーカー	測定モード	特長	製品名（カタログ番号：最小サイズ）
細胞外 ATP	発光	高感度発光アッセイ	RealTime-Glo™ Extracellular ATP Assay (GA5010)

操作概要：RealTime-Glo™ Extracellular ATP Assay

- RealTime-Glo™ Extracellular ATP Assay Reagent を調製。
- ATP Assay Reagent を調製。
- 細胞サンプルにテスト化合物、“RealTime-Glo™ Extracellular ATP Assay Reagent” を添加して、混和
- GloMax®で経時的に測光

[GloMax®で“RealTime-Glo™ Extracellular ATP Assay” プロトコルを選択]



ここがすごい！

- 細胞外 ATP 測定専用の高感度測定試薬
- 試薬 1 回の添加で 24 時間のカインティクスアッセイが可能
- エンドポイントでの Total ATP の測定も可能

ミトキサントロン処理による細胞外 ATP の経時的な測定

U937 細胞を 1 ウエルあたり 10,000 個播種（RPMI 1640 + 10% FBS）し、RealTime-Glo™ Extracellular ATP Assay Reagent 存在下、ミトキサントロン希釈系列で処理した。スケジューリングされたインターバルをおきながらマニュアルでインキュベーターからプレートを取り出し、GloMax® Discover System で測定した。各タイムポイントでの測定後は速やかにインキュベーターに戻した。

プロトコル詳細：

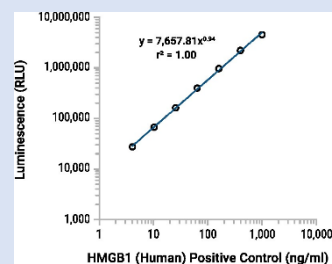
- 発光 細胞外 ATP アッセイ (RealTime-Glo™ Extracellular ATP Assay) [[資料番号 TM652](#)]

こんな製品も！

Lumit™ HMGB1 Immunoassay

- 培養細胞上で直接測定する高速イムノアッセイ（簡便な“添加&測定”方式）
- ヒトまたはマウスの HMGB1 を検出可能
- ルミノメーターによる高感度 発光検出

Lumit™ イムノアッセイについては 23 ページ参照

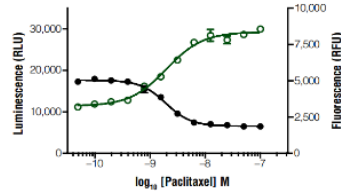
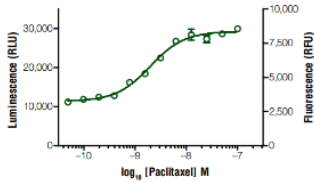


ほとんどの細胞モデルで予想される濃度をカバーする高感度な Lumit™ イムノアッセイ

マルチアッセイ（ネクローシス + 生存性 他） [発光] [蛍光]

概要：

1 ウェル内の細胞から複数マーカーを同時に測定するマルチアッセイは、取得可能なデータの増加およびデータの精度の向上と同時に、細胞培養に要する時間や試薬などの費用も節約することができます。様々な内源性および分泌マーカー（生死：ATP、還元能、LDH など、代謝：グルコース、グルタミンなど、酸化/還元：GSH、H₂O₂ など）を測定することで細胞状態、応答性に関するプロファイルを得ることができます。また、レポーターアッセイと細胞生存性を組み合わせることで、細胞数で補正された、より正確なデータを取得することもできます。



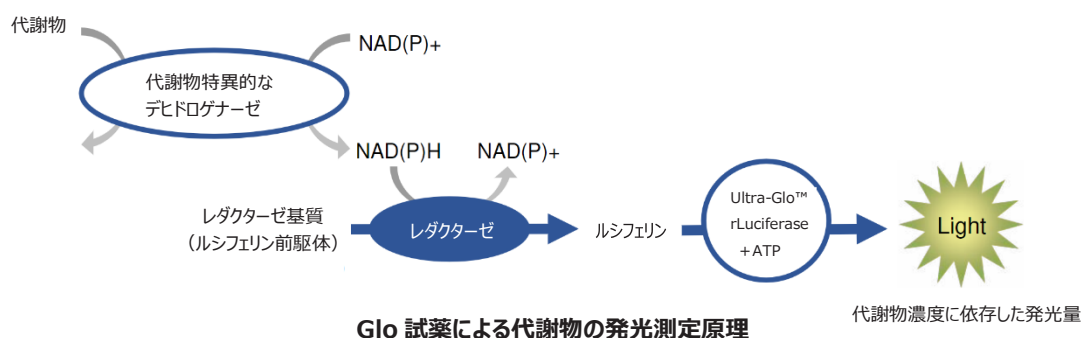
1st アッセイ		2nd アッセイ				
現象/マーカー/試薬		現象	マーカー	試薬		
生存性 還元能 RealTime-Glo™ MT	⇒	毒性	漏出DNA	CellTox Green		
			死細胞プロテアーゼ	CytoTox-Fluor		
		生存性	ATP	CellTiter-Glo 2.0		
		アポトーシス	カスパーゼ-3/7,8/9	Caspase-Glo 3/7, 8, 9		
		炎症	カスパーゼ-1	Caspase-Glo 1 Inflammation Assay		
		エネルギー代謝	⇒		グルコース取込み	Glucose Uptake-Glo
					グルコース/アミノ酸/脂質の各代謝マーカー	Glucose-Glo ,Lactate-Glo, Glutamate-Glo, Triglyceride-Glo 他
					NAD(P)/NAD(P)H	NAD(P)/NAD(P)H-Glo Assays
		薬物代謝	P450	P450-Glo Assays		
		発現レベル	転写活性 / タンパク質	ONE-Glo, Bright-Glo, Steady-Glo		
アポトーシス PS-アネキシンV RealTime-Glo™ Annexin V	⇒	生存性	ATP	CellTiter-Glo 2.0, CellTiter-Glo 3D		
			生細胞プロテアーゼ	CytoTox-Fluor		
		アポトーシス	カスパーゼ-3/7,8/9	Caspase-Glo 3/7, 8, 9		
		生存性	ATP	CellTiter-Glo 2.0, CellTiter-Glo 3D		
			還元能	RealTime-Glo MT		
毒性 DNA漏出 CellTox™ Green	⇒	アポトーシス	カスパーゼ-3/7,8/9	Caspase-Glo 3/7, 8, 9		
			PS:アネキシン V	RealTime-Glo Annexin V Apoptosis Assay		
		酸化/還元	酸化ストレス	ROS-Glo H2O2		
				GSH/GSSG-Glo		
		発現レベル	転写活性 / タンパク質	NanoDLR, ONE-Glo, Bright-Glo, Steady-Glo		
シグナル伝達	cAMP	cAMP-Glo Assay				
生存性 生細胞プロテアーゼ CellTiter-Fluor™	⇒	炎症	カスパーゼ-1	Caspase-Glo 1 Inflammation Assay		
		生存性	ATP	CellTiter-Glo 2.0		
		毒性	死細胞プロテアーゼ	CytoTox-Glo		
		アポトーシス	カスパーゼ-3/7	Caspase-Glo 3/7, 8, 9, Apo-ONE		
		酸化/還元	酸化ストレス	ROS-Glo H2O2		
				GSH/GSSG-Glo		
		エネルギー代謝	⇒		グルコース取込み	Glucose Uptake-Glo
					グルコース/アミノ酸/脂質の各代謝マーカー	Glucose-Glo ,Lactate-Glo, Glutamate-Glo, Triglyceride-Glo 他
					発現レベル	転写活性 / タンパク質
		薬物代謝	P450	P450-Glo Assay		

※ マルチアッセイの詳細、その他の組み合わせなどについては弊社までお問合せください。

エネルギー代謝、代謝物測定（グルコース、アミノ酸、脂質の代謝物） [発光]

概要：

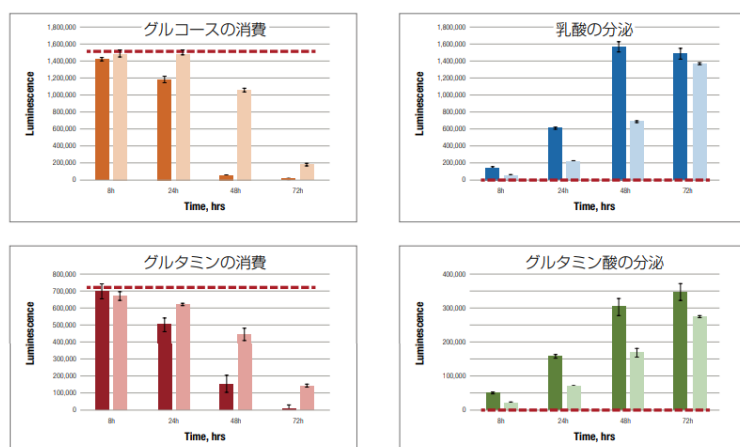
幹細胞の分化やがん化などにより、その特徴的な代謝に変化が現れるため、その変化のメカニズムを調べ、がんの特徴的な代謝を標的とする創薬なども試みられています。プロメガの代謝物発光アッセイ法はグルコース代謝系（グルコース、乳酸 他）、アミノ酸代謝系（グルタミン、グルタミン酸 他）および脂質代謝系（トリグリセリド、グリセロール 他）の主要な指標を培養細胞で高感度に測定することができるシステムです。除タンパク質ステップも無く、高価な専用検出器を必要とせず、ハイスループットでアッセイを行うことができます。代謝物測定アッセイでは、測定に必要な培地は数 μl なので各タイムポイントで複数の指標を同時に測定することもできます。


操作概要：（例）Lactate-Glo™

- 細胞を培養し、薬剤などの刺激を与える
- Lactate Detection Reagent を調製
- 培地 2 μl を回収、50 倍希釈し、一部を Lactate Detection Reagent と混和して 60 分インキュベート
- GloMax® で測光

ここがすごい！（取込みアッセイを除く）

- 培地に試薬を添加するだけ面倒な抽出・遠心操作やソニケーションが不要
- 培地でアッセイ後に残った細胞で他のアッセイが可能
- 1 回に培地 2 μl のみ使用するので、タイムコース実験やマルチアッセイが可能

[GloMax® で “Lactate-Glo” プロトコルを選択]


培養上清を用いた、各代謝産物の経時的測定
各代謝産物のグラフにおいて、濃い棒グラフは 15,000 細胞の条件を示し、薄い棒グラフは 5,000 細胞の条件を示す。また、赤い点線は培地だけの測定値を示す。培地は DMEM, 5mM glucose, 2mM glutamine, 10% dialyzed serum を使用した。

	代謝マーカー	測定モード	特長	製品名 (カタログ番号: 最小サイズ)
グルコース代謝	細胞に取り込まれたグルコース類似体 (2DG → 2DG6P)	発光	Non-RI の発光グルコース取込みアッセイで、分レベルでの取込み量 (μM) を測定 培地中の代謝物を高感度に測定可能 (測定下限 約 50nM) 。高い Z 値を示し、384, 1536 ウェルプレートでの HTS にも対応	Glucose Uptake-Glo™ (J1341)
	グルコース			Glucose-Glo™ (J6021)
	乳酸			Lactate-Glo™ (J5021)
	グリコーゲン			Glycogen-Glo™ (お問合せ下さい)
アミノ酸代謝	グルタミン/グルタミン酸			Glutamine/Glutamate-Glo™ (J8021)
	グルタミン酸			Glutamate-Glo™ (J7021)
	分岐鎖アミノ酸 (BCAA)			BCAA-Glo™ (お問合せ下さい)
脂質代謝	トリグリセリド			Triglyceride-Glo™ (J3160)
	グリセロール			Glycerol-Glo™ (J3150)
	コレステロール/コレステロールエステル			Cholesterol/ Cholesterol Ester-Glo™ (J3190)
	βヒドロキシ酪酸 (ケトン体)			BHB-Glo™ (お問合せ下さい)
ミトコンドリア機能	ピルビン酸			Pyruvate-Glo™ (お問合せ下さい)
	リンゴ酸			Malate-Glo™ (お問合せ下さい)
	ATP			細胞内、細胞外 ATP を高感度に測定

※上記代謝物アッセイラインナップは 2023 年 10 月時点でのものであり、予告なく変更することがありますので予めご了承ください。

プロトコル詳細 :

- ・ 発光 グルコース取込みアッセイ (Glucose Uptake-Glo™) [[資料番号 TM467](#)]
- ・ 発光 ルコースアッセイ (Glucose-Glo™-Assay) [[資料番号 TM494](#)]
- ・ 発光 乳酸アッセイ (Lactate-Glo™ Assay) [[資料番号 TM493](#)]
- ・ 発光 グルタミン/グルタミン酸アッセイ (Glutamine/Glutamate -Glo™ Assay) [[資料番号 TM496](#)]
- ・ 発光 グルタミン酸アッセイ (Glutamate-Glo™ Assay) [[資料番号 TM495](#)]
- ・ 発光 トリグリセリドアッセイ (Triglyceride-Glo™ Assay) [[資料番号 TM600](#)]
- ・ 発光 グリセロールアッセイ (Glycerol-Glo -Glo™ Assay) [[資料番号 TM600](#)]
- ・ 発光 コレステロール/コレステロールエステルアッセイ (Cholesterol/ Cholesterol Ester-Glo™ Assay) [[資料番号 TM601](#)]

※上記以外の製品プロトコルについては弊社までお問合せください。

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の “カタログ番号” または “資料番号” で検索ください。 >

酸化・還元測定 (ROS、GSH、NADH、NADPH) [発光]

概要：

好気性生物は酸素を用いた代謝機構により大きなエネルギーを得ていますが、同時に酸化ストレスに曝されるため様々な防御機構を発達させてきました。細胞内の酸化還元状態の変化は、細胞の老化や疾患発症などにつながると考えられており、幅広い研究分野で注目されています。また、H₂O₂ により NFκB 経路や MAPK 経路の活性化が誘導され発がんに寄与することや、酸化ストレスが幹細胞の自己複製能や分化に関与していることなどが報告されています。プロメガでは 細胞内の酸化還元に関する細胞内マーカーを発光法により測定する技術を有しています。

レドックスマーカー	測定モード	特長	製品名 (カタログ番号: 最小サイズ)
H ₂ O ₂	発光	HRP 酵素を使用しないので、偽陽性が最低限	ROS-Glo™ H ₂ O ₂ Assay (G8820)
GSH		除タンパク質や遠心が不要な簡便な操作性	GSH -Glo™ Assay (V6911)
GSH (還元型) /GSSG (酸化型)		高感度に総 GSH および酸化型 GSSG を定量	GSH/GSSG-Glo™ Assay (V6611)
NADP/NADPH		高感度 NADP+/NADPH 定量 (10nM- 400nM)	NADP/NADPH-Glo™ Assay (G9081)
NAD/NADH		高感度 NAD+ or NADH 定量 (10nM- 400nM)	NAD/NADH-Glo™ Assay (G9071)

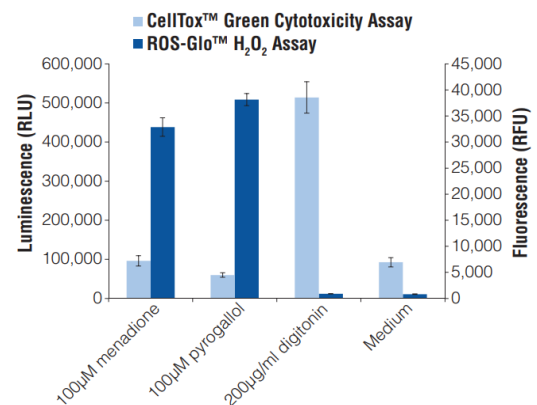
操作概要：(例) ROS-Glo™

- 96ウェルプレートに細胞を播種し、インキュベート
- 薬剤などととも H₂O₂ Substrate Solution を添加し、最大 6 時間までインキュベート
- ROS-Glo™ Detection Solution を添加し、20分間インキュベート
- GloMax®で測光

[GloMax® で “ROS-Glo” プロトコルを選択]

ここがすごい！

- 発光法による高感度で頑健なアッセイ
- 従来法に比べてシンプルなので HTS にも最適
- マルチアッセイにも対応



ROS-Glo™ H₂O₂ Assay と細胞毒性試験 CellTox™ Green とのマルチアッセイ

384 ウェルプレートの各ウェルに HepG2 細胞 2000 個を播種し、メナジオン、ピロガロールおよびジギトニンで 2 時間処理し、ROS-Glo™ および CellTox™ Green アッセイを行った。

プロトコル詳細：

- 発光 H₂O₂ アッセイ (ROS-Glo™ H₂O₂ Assay) [資料番号 TM391]
- 発光 GSH アッセイ (GSH-Glo™ Glutathione Assay) [資料番号 TB369]
- 発光 GSH/GSSG アッセイ (GSH/GSSG-Glo™ Assay) [資料番号 TM344]
- 発光 NADP/NADPH アッセイ (NADP/NADPH-Glo™ Assay) [資料番号 TM400]
- 発光 NAD/NADH アッセイ (NAD/NADH-Glo™ Assay) [資料番号 TM399]

薬物代謝活性測定 (P450) [発光]

概要：

P450 酵素は薬物のクリアランス、毒性、活性化に深く関与し、薬物間の有害な相互作用にも影響を及ぼすことがあります。そのため、薬剤開発工程において P450 酵素により変化するものや、毒性を持つような化合物はスクリーニングの早い段階に排除されることが望ましいとされています。プロメガのセルベースアッセイ用の P450 発光基質および反応産物（ルシフェリン）は細胞透過性であるため、培地上清を用いて P450 活性を発光測定することもでき、残った細胞を他のアッセイ（CellTiter-Glo[®] などの生存性アッセイ）に用いることもできます。P450-Glo[™] Assay を用いた細胞ベースのアプリケーションとして、基底 CYP 活性の測定、テスト化合物による活性誘導、テスト化合物による基底活性 / 誘導活性の阻害、核内受容体活性化の追跡（PXR,PXR, CAR, AHR, PPAR）などがあります。

薬剤代謝マーカ	測定モード	特長	製品名（カタログ番号：最小サイズ）
CYP3A4	発光	CYP3A4 に対して最も高感度で選択性が非常に高い基質（阻害アッセイおよび細胞ベースの誘導アッセイに最適）	P450-Glo [™] CYP3A4 Assay [Luciferin-IPA] (V9001)
CYP1A2		CYP1A2 に対する選択性が高い	P450-Glo [™] CYP1A2 Induction/Inhibition Assay [Luciferin-1A2] (V8421)
CYP2B6		CYP2B6 に対する選択性が高い	P450-Glo [™] CYP2B6 Assay (V8321)
CYP2C9		CYP2C9 に対する選択性が非常に高い	P450-Glo [™] CYP2C9 Assay [Luciferin-H] (V8791)

◀ おすすめポイント
”時短 &
高シグナル/ノイズ”

操作概要：（例）細胞非溶解アッセイ

- 細胞にテスト化合物を添加
- 発光 CYP 基質を含む新しい培地に交換し、37°C で 30 分-4 時間（基質により異なる）インキュベート
- 培地 25μl を白色プレートに分注し、調製した Luciferin Detection Reagent を添加
- 室温で 20 分インキュベートした後に、GloMax[®] で測光

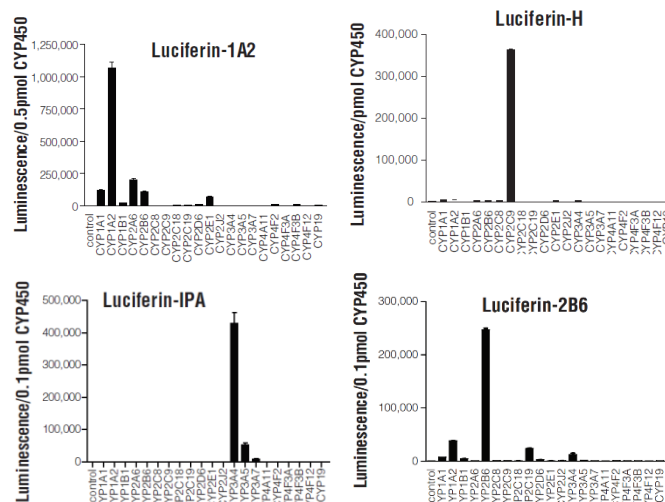
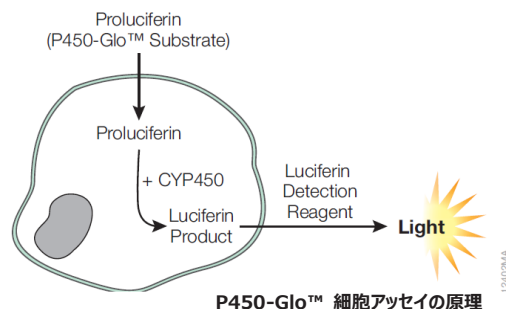
[GloMax[®] で “P450-Glo” プロトコルを選択]

ここがすごい！

- 発光法による高感度アッセイ
- HPLC など従来法に比べ非常に簡便
- 細胞非溶解プロトコルなら細胞を用いたマルチアッセイも可能

プロトコル詳細：

- 発光 P450 アッセイ (P450-Glo[™] Assays) [資料番号 TB325]



細胞ベースアッセイに適した特異性の高い P450 発光基質

21 種類のヒト -P450 アイソフォームについて各 P450-Glo[™] Substrate を用いて測定した。

オートファジーフラックス測定 [発光]

概要：

オートファジーは余剰あるいは有害な細胞内のタンパク質などを分解する重要な細胞内パスウェイであり、平常あるいはストレス誘導条件下における細胞の健全性を維持する上でも重要な機構です。現在のオートファジーのモニタリングは主に煩雑なフローサイトメトリーやイメージングで行われており、定量性にも限界があります。プロメガではプレートベースで“添加 - 混和 - 測定”するだけの新規なオートファジーフラックスの定量レポーターシステムを開発しました。このレポーターシステムは簡便でオートファジーフラックスを高感度に定量でき、ハイスループットフォーマットにも対応します。

オートファジーレポーターシステムではオートファジーのマーカーとして広く知られている LC3 に 11 アミノ酸の発光タグ HiBiT を付加したレポーターを用いています。LC3-HiBiT レポーターベクターを細胞に導入し、相補的な LgBiT と発光基質を含む検出試薬を添加することで LC3-HiBiT の発現や分解を検出することができます。オートファジーの誘導は発光シグナルの低下として、オートファジーの阻害は発光シグナルの増加としてオートファジーフラックスを評価することが可能です。

マーカー	測定モード	特長	製品名 (カタログ番号: 最小サイズ)
LC3	発光	LC3 HiBiT Reporter を安定発現する HEK293 細胞と検出試薬	HEK293 Autophagy LC3 HiBiT Reporter Cell Line and Detection System (GA1040)
		LC3 HiBiT Reporter を安定発現する U2OS 細胞と検出試薬	U2OS Autophagy LC3 HiBiT Reporter Cell Line and Detection System (GA1050)
		Autophagy LC3 HiBiT Reporter Vector と検出試薬	Autophagy LC3 HiBiT Reporter Vector and Detection System(GA2550)

操作概要：

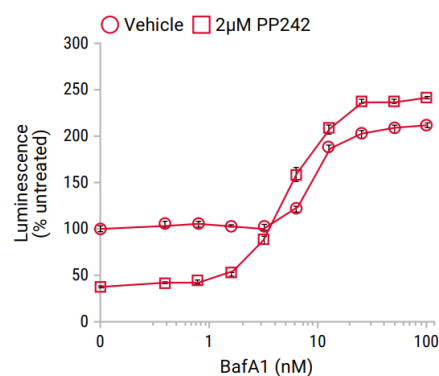
- Autophagy LC3 HiBiT Reporter を発現する細胞をプレートに播種
- 化合物などを添加し、インキュベート
- Nano-Glo[®] HiBiT Lytic Reagent を添加して、10 分～3 時間後に GloMax[®] で測光

[GloMax[®] で “Autophagy HiBiT Reporter Assay” プロトコルを選択]
遺伝子改変・安定発現株作成受託についてはお問合せください。

ここがすごい！

- 定量性のある明瞭な結果が得られる LC3 レポーターアッセイ
- 簡便な “添加 - 混和 - 測定” プロトコル
- ハイスループットアプリケーションに合わせてスケール変更自在

U2OS Autophagy LC3 HiBiT Reporter



オートファジー阻害剤の評価

U2OS Autophagy LC3 HiBiT Reporter Cells を白色 96 ウェルプレートに播種し (8,000 個 / ウェル)、オーバーナイトで細胞を付着させた。Baf A1 の濃度を増加させて 2 µM PP242 の有無の 2 つの条件で 21 時間トリプレートで処理を行った。発光シグナルはそれぞれ未処理コントロールで補正した。

プロトコル詳細：

- 発光 オートファジーアッセイ用 細胞 & 試薬 (Autophagy LC3 HiBiT Cell and Detection) [資料番号 TM535]
- 発光 オートファジーアッセイ用 ベクター (Autophagy LC3 HiBiT Vector) [資料番号 9PIGA255]

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の “カタログ番号” または “資料番号” で検索ください。 >

プロテアソーム活性測定 [発光]

概要：

Proteasome-Glo™ Cell Based Assay は、培養細胞内に存在するプロテアソーム複合体のキモトリプシン様、トリプシン様、カスパーゼ様プロテアーゼ活性を測定するための発光ホモジニアスアッセイシステムです。Proteasome-Glo™ Cell Based Assay では、特殊なバッファー（細胞透過性、プロテアソーム活性およびルシフェラーゼ活性に最適化）に溶解したプロテアソームに対する発光基質を使用します。“添加 - 混和 - 測定”の簡単なフォーマットで、Proteasome-Glo™ Cell Based Assay Reagent が添加されるとプロテアソームによる基質の切断が起こり、さらにルシフェラーゼ反応により迅速に発光シグナルが生じます。本システムでは各プロテアーゼの活性に特異的な発光基質、Suc-LLVY-aminoluciferin（キモトリプシン様活性）、Z-LRR-aminoluciferin（トリプシン様活性）、Z-nLPnLD-aminoluciferin（カスパーゼ様活性）を用います（※ Suc-LLVY, Z-LRR または Z-nLPnLD の配列を含む発光基質は 20S プロテアソームにも認識されます）。

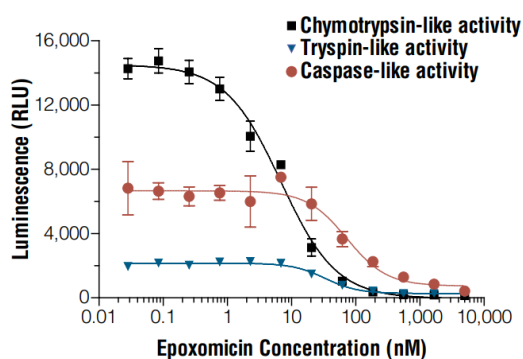
マーカー	測定モード	特長	製品名（カタログ番号：最小サイズ）
キモトリプシン様活性	発光	Suc-LLVY- アミノルシフェリン 発光基質	Proteasome-Glo™ Chymotrypsin-Like Cell-Based Assay (G8660)
トリプシン様活性		Z-LRR- アミノルシフェリン 発光基質および非特異的プロテアーゼ活性抑制のための阻害剤	Proteasome-Glo™ Trypsin-Like Cell-Based Assay (G8760)
カスパーゼ様活性		Z-nLPnLD- アミノルシフェリン 発光基質	Proteasome-Glo™ Caspase-Like Cell-Based Assay (G8860)

操作概要：

- Proteasome-Glo™ Cell-Based Reagent を調製
- サンプルと等量の Proteasome-Glo™ Cell-Based Reagent を添加し、混和後 5-10 分間 インキュベート
- GloMax®で測光

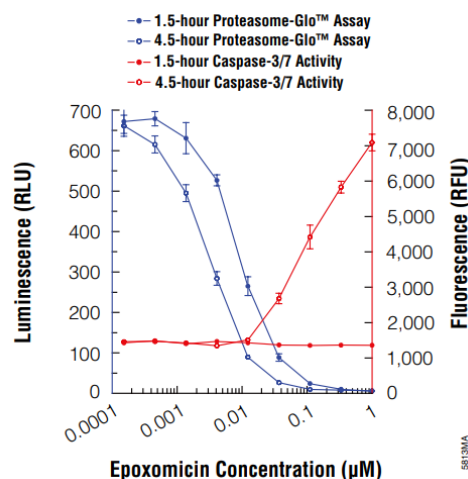
ここがすごい！

- 培養細胞に試薬を加えて混ぜて測るだけ
- 試薬を加えて 10 分で結果が得られます。
- 高感度で優れたシグナル/ノイズ比



384 ウェルプレートでの各プロテアーゼアッセイで得られたエポキシマイシン阻害曲線

U266 細胞 (5,000 個/ウェル) を 384 ウェルプレートに播種し、2.5 時間インキュベートした。エポキシマイシンを添加し、2 時間インキュベート。Proteasome-Glo™ Cell-Based Reagent を加えて 15 分後に測光した。



プロテアソームおよびカスパーゼ 3/7 活性検出のための連続マルチアッセイ H929 細胞を 96 ウェルプレートに播種し、1 昼夜培養した後、エポキシマイシン (10μl/ウェル) とともに 1.5 または 4.5 時間インキュベートした。Proteasome-Glo™ Cell Based Assay Reagent 添加 15 分後に発光を測定し、すぐに Apo-ONE® Homogeneous Caspase-3/7 Reagent を追添してカスパーゼ 3/7 による蛍光を検出した。

プロトコル詳細：

- 発光 プロテアソームアッセイ (Proteasome-Glo™ Cell-Based Assays) [[資料番号 TB346](#)]

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の“カタログ番号”または“資料番号”で検索ください。 >

エフェクター細胞活性（ADCC、T細胞活性化） [発光]

概要：

近年、がん免疫療法がクローズアップされ、免疫細胞の活性化をターゲットとする薬剤、細胞治療などが注目を集めています。これまでの免疫細胞活性化による細胞毒性の評価には、患者由来のエフェクター細胞としてNK細胞やT細胞を含む末梢血単核細胞（PBMC）などを採取する必要があり、煩雑でS/N比や再現性が低いなど様々な問題があり、特に多検体でのスクリーニング・モニタリングには困難が伴いました。プロメガのレポーターアッセイを応用した遺伝子組み換え細胞を用いれば、必要に応じてすぐに実験に使用できる細胞（エフェクター細胞 / ターゲット細胞）と検出試薬を入手することができ、発光による検出法により明瞭な結果を得ることができます。

活性化対象	作用機序	測定モード	製品名（カタログ番号：最小サイズ）
T細胞活性化	T細胞活性化	発光	T Cell Activation Bioassay, IL-2 (J1651)
	免疫チェックポイント阻害		PD-1/PD-L1 (J1250), CTLA-4 (JA3001), TIGIT/CD155 (J2201) LAG-3, 4-1BB 他
	CAR-T細胞療法		T Cell Activation Bioassay, NFAT (J1621) 他
NK細胞活性化	ADCC		ADCC Bioassay (G7015)
マクロファージ活性化	ADCP		ADCP Bioassay (G9901)
免疫増強	サイトカイン		IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, IL-15, IL-17, IL-23, VEGF (GA2001), RANKL Bioassay

操作概要：（例）ADCC アッセイ

- ・ 白色96ウェルプレートにターゲット細胞（キットに付属）および抗体（コントロール Anti-CD20 や実験抗体など）を分注
- ・ エフェクター細胞（キットに付属）を分注して6時間インキュベート
- ・ 発光試薬を添加して5～30分後にGloMax®で測光

[GloMax® で “ADCC Reporter Bioassay” プロトコルを選択]

ビデオ：

promega.co.jp/go/adccmov



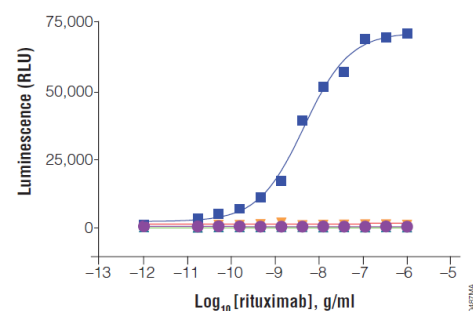
ここがすごい！

- ・ 発光レポーターによる再現性の高いアッセイ
- ・ エフェクター細胞調製不要
- ・ その他のバイオアッセイも続々登場

プロトコル詳細：

- ・ ADCC アッセイ [資料番号 TM387]
- ・ T細胞活性化アッセイ [資料番号 TM492]
- ・ PD-1/PD-L1 免疫チェックポイント遮断アッセイ [資料番号 TM468]

Target cells, effector cells and specific antibody ■ WIL2-S, Jurkat/NFAT-*luc* + FcγRIIIa, rituximab
 No target cells ● NO WIL2-S, Jurkat/NFAT-*luc* + FcγRIIIa, rituximab
 No effector cells or no FcγRIIIa ▲ WIL2-S, Jurkat-NFAT-*luc* (NO FcγRIIIa), rituximab
 ▼ WIL2-S, NO Jurkat/NFAT-*luc* + FcγRIIIa, rituximab
 No antibody or nonspecific antibody ○ WIL2-S, Jurkat/NFAT-*luc* + FcγRIIIa, NO rituximab
 ▼ WIL2-S, Jurkat/NFAT-*luc* + FcγRIIIa, trastuzumab



優れた特異性を示す ADCC Reporter Bioassay

リツキシマブ、トラスツズマブ、コントロール培地（抗体なし）の段階希釈系列をエフェクター細胞とともにターゲット細胞存在下あるいは非存在下で37℃、6時間インキュベートした。ルシフェラーゼ活性を定量した。

※その他のバイオロジックス ツールの最新情報は以下をご覧ください

promega.co.jp/go/biologics



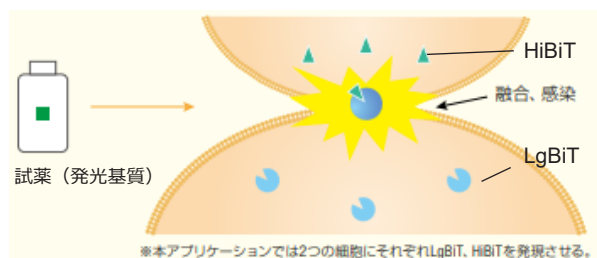
ウイルス感染・細胞融合 [発光]

概要：

LgBiT および HiBiT を発現させた 2 種類の細胞あるいは細胞とウイルスなどの組み合わせを用いて、それらが融合・感染すると HiBiT と LgBiT が自発的に会合して発光酵素となるため、基質添加ともなう発光を定量することで、細胞融合や感染の度合いが分かります。HiBiT は 11 アミノ酸の短い発光タグなので、挿入配列の長さ制限のあるウイルスゲノムへの挿入や CRISPR-Cas9 によるゲノム編集を応用することにより内在ローカスへの挿入が行えます。

操作概要：（例）HiBiT

- ・ LgBiT を安定発現する細胞、HiBiT を導入したウイルスまたは細胞を作成する。
- ・ LgBiT または HiBiT をそれぞれ発現する 2 種類の細胞を共培養、または LgBiT 発現細胞に HiBiT 発現ウイルスを感染させる。
- ・ 発光基質を添加し、GloMax[®] で測定



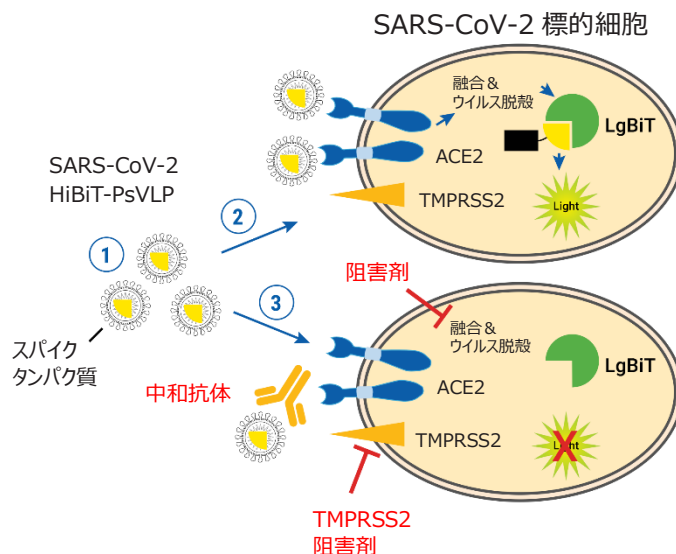
HiBiT テクノロジーによるウイルス感染・細胞融合の検出スキーム

ここがすごい！

- ・ 極小発光タグを利用したウイルス感染または複製検出
- ・ 発光酵素会合を利用した細胞融合検出
- ・ アクセプター細胞への Exosome デリバリー 検出系にも応用可能

HiBiT シュードタイプウイルス様粒子(PsVLPs)の感染アッセイの例：

1. SARS-CoV-2 スパイクタンパク質でシュード化した HiBiT タグ付き VLP (HiBiT は PsVLP 内部にパッケージ) を SARS-CoV-2 標的細胞に添加。
2. 阻害剤や中和抗体がない場合、SARS-CoV-2 HiBiT-PsVLP はスパイク/ACE2 相互作用を介して標的細胞に結合し、細胞プロテアーゼを介した膜融合により HiBiT は標的細胞内に放出され、LgBiT と結合して基質存在下で発光信号を生成。
3. SARS-CoV-2 の侵入に対する阻害剤または中和抗体の存在下では、PsVLP の侵入/融合プロセスがブロックされ、HiBiT の放出が阻害され、発光信号は得られない。



※上記の細胞、ウイルスあるいは安定発現株作成受託についてはお問合せください。

参考情報：

- ・ ウイルス感染：http://www.promega.co.jp/pdf/virus_infectious_disease_research.pdf
- ・ 細胞融合：http://www.promega.co.jp/pdf/kawara_1710_p4.pdf
- ・ HiBiT テクノロジー：http://www.promega.co.jp/product/pm/HiBiT_technology/

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の“カタログ番号”または“資料番号”で検索ください。 >

細胞内 タンパク質：タンパク質相互作用検出 (NanoBRET™, NanoBiT) [発光] [BRET]

概要：

免疫沈降 (IP) やプルダウンなどで見出したタンパク質：タンパク質相互作用 (PPI) について、生きた細胞内における PPI の再現性を確かめることは重要です。また生体内に近い条件で PPI 阻害剤などをスクリーニングすることが、適切な候補分子の探索には重要になります。これまで細胞での PPI アッセイには FRET、BRET、スプリット GFP などが試されてきましたが、感度や操作性に問題があり、決定的な手法の開発が待たれていました。プロメガの NanoBRET™ (BRET 検出) または NanoBiT™ (発光検出) 技術を利用した 2 つのアプローチはこれまでの問題を回避し、細胞内の複雑な環境下で PPI を検出するため、PPI を標的とした阻害剤のスクリーニングなどに最適です。

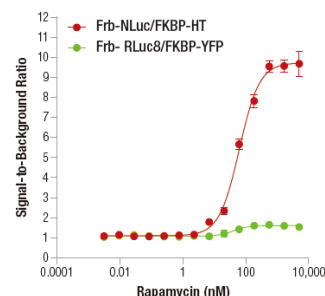
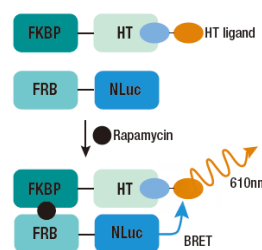
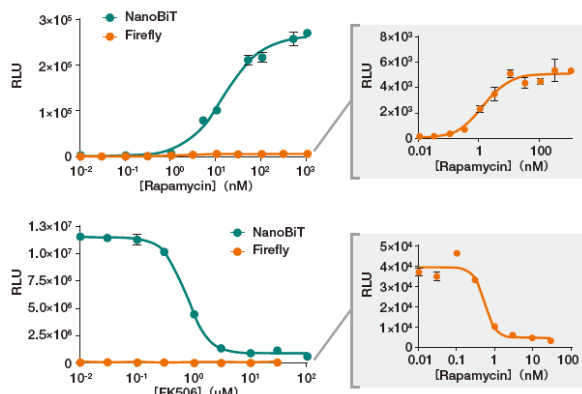
検出対象		タンパク質相互作用 (近接度)	タンパク質相互作用 (直接的な相互作用)	
測定モード (方式)		BRET (生物発光共鳴エネルギー転移)	発光 (発光酵素断片の相補性)	
必 要 条 件	タグの大きさ	小さい 20 kDa (NanoLuc™) と 30 kDa (HaloTag®)	非常に小さい 11 アミノ酸 (SmBiT) と 18 kDa (LgBiT)	
	データ	2 波長の比率 (低 %CV)	RLU (相対発光強度)	
	試薬添加回数	2	1	
	検出機器	アッセイ	GloMax® Discover BRET 対応ルミノメーター (適合フィルター要)	GloMax® ルミノメーター (フィルター不要)
		イメージング	発光イメージングシステム (Olympus LV200 など) : 相互作用前後を観察可能	発光イメージングシステム (Olympus LV200 など) : 複合体のみ観察可能
	可逆性 (キネティックアッセイ可)	○	○	
	製品形態	キット (100 種類以上)、クローニングベクター、検出試薬	クローニングベクター、検出試薬	
	ライセンス費用 (企業を含む)	試薬の購入のみ		
	その他	その他 HaloTag 側を使ったプルダウン	-	
製品名 (カタログ番号: スタートキット)	NanoBRET™ (N1811)	NanoBiT™ (N2014)		

操作概要：(例) NanoBRET™

- 相互作用ペア タンパク質 A および タンパク質 B の遺伝子に PPI 検出用のタグとして NanoLuc® または HaloTag® を付加 (N 末/C 末あるいは NanoLuc®/HaloTag® の最適な組み合わせを検討する必要あり)
- 細胞で融合タンパク質 A およびタンパク質 B を発現させる
- 検出用の試薬を添加して GloMax® Discover など BRET または発光シグナルを検出

[GloMax® で “BRET: NanoBRET 618” プロトコルを選択]

※遺伝子改変・安定発現株作成受託についてはお問合せください。



従来の BRET アッセイと NanoBRET™ のパフォーマンス比較

HaloTag® 618 Ligand が結合した FKBP-HaloTag® と FRB-NanoLuc® 存在下でラバマイシンを加えると 2 つの融合タンパク質が相互作用を起こし、BRET を生じる (左図)。FKBP-YFP と FRB-RLuc8 による BRET システムとのデータ比較。

ここがすごい！

- 細胞ベースアッセイによる真の PPI を観測可能
- 従来の PPI から飛躍的に改良された S/N
- “究極の” BRET と “簡便な” NanoBiT 発光

◀ NanoBiT™ とスプリットホタルシフェラーゼの応答性の比較

NanoBiT™ タグまたはスプリットホタルシフェラーゼタグを融合した FKBP および FRB を発現する HEK293 細胞にラバマイシン (上) または FK506 (下) を添加した。

プロトコル詳細：

- BRET PPI アッセイ (NanoBRET™ System) [資料番号 TM439]
- 発光 PPI アッセイ (NanoBiT® System) [資料番号 TM461]

◀ 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の “カタログ番号” または “資料番号” で検索ください。>

細胞内 タンパク質：低分子相互作用検出 (NanoBRET™ Target Engagement) [BRET]

概要：

薬剤の標的分子への結合の選択性と親和性を理解することは、薬剤を評価するうえで重要なポイントとなります。これらを実験に当たり、従来は単離精製した標的分子を用いたセルフリー系が用いられてきました。しかし、セルフリー系は、生体内での環境と大きく異なり、必ずしも薬剤の実際の効果環境を反映しているとは言えません。そこで、BRET を用いた評価系、Target Engagement が開発されました。BRET のドナーとなる NanoLuc® ルシフェラーゼを融合させた標的タンパク質を発現した細胞に、BRET アクセプターとなる蛍光で標識した膜透過性トレーサーを添加します。トレーサーが標的分子に結合すると BRET が起こり、アクセプターが光を発します。トレーサーを結合させた細胞に、非標識のテスト化合物を添加することで、競合阻害様式によりテスト化合物と標的タンパク質の結合選択性や親和性を評価することができます。

検出対象	測定モード	特長	製品名 (カタログ番号: 最小サイズ)
キナーゼ：化合物 相互作用	BRET	NanoBRET™ トレーサー (各種キナーゼトレーサー)、発光基質、コントロール NanoLuc®融合発現ベクター	NanoBRET™ TE Intracellular Kinase Assay, K-3 (N2600) 他 全8種
BET プロモドメインタンパク質：化合物 相互作用		NanoBRET™ トレーサー (BET BRD Tracer)、発光基質、コントロール NanoLuc®融合発現ベクター	NanoBRET™ TE Intracellular BET BRD Assay (N2130)
HDAC：化合物 相互作用		NanoBRET™ トレーサー (HDAC Tracer)、発光基質、コントロール NanoLuc®融合発現ベクター	NanoBRET™ TE Intracellular HDAC Assay (N2080)

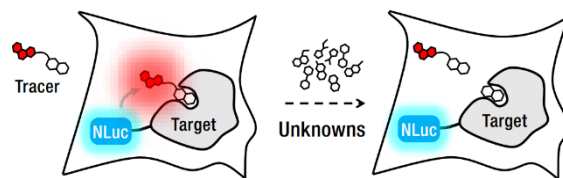
※各トレーサーに対応する NanoLuc® 融合標的タンパク質発現ベクターが別途必要です (ベクターについては各プロトコルを参照)。

操作概要：(例) NanoBRET TE Intracellular Kinase Assay

- NanoLuc と標的タンパク質との融合タンパク質を発現する細胞を培養
- トレーサー (蛍光標識された化合物) を添加した後、未標識テスト化合物を添加し、GloMax® で BRET を観察

[GloMax® で “BRET: NanoBRET 618” プロトコルを選択]

※遺伝子改変・安定発現株作成受託についてはお問合せください。



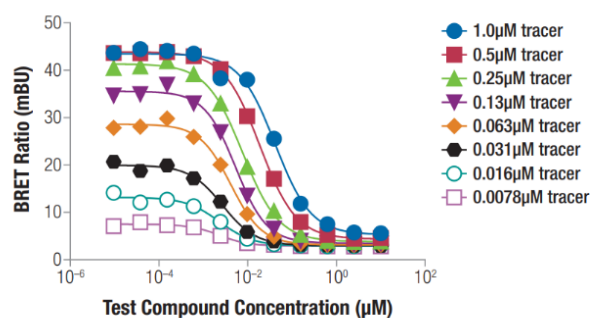
BRET を用いた細胞内蛍光標識化合物結合試験 (Target Engagement)

ここがすごい！

- 細胞内で起こる真の化合物：タンパク質の相互作用
- タンパク質：低分子化合物 結合試験 (Target Engagement)
- 化合物の滞留時間測定 (residence time)

プロトコル詳細：

- NanoBRET™ TE キナーゼ アッセイ (NBS) [資料番号 TM603]
- NanoBRET™ TE キナーゼ アッセイ (ADH) [資料番号 TM598]
- NanoBRET™ TE BET プロモドメイン アッセイ [資料番号 TM478]
- NanoBRET™ TE HDAC アッセイ [資料番号 TM483]



Tracer Concentration (µM)	1	0.5	0.25	0.13	0.063	0.031	0.016	0.0078
IC ₅₀	0.042	0.019	0.0077	0.0054	0.0042	0.0027	0.0023	0.0023

DDR1-NanoLuc® 融合タンパク質発現 HEK293 細胞での NanoBRET™ トレーサー競合実験

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の “カタログ番号” または “資料番号” で検索ください。 >

In Vitro タンパク質 : タンパク質相互作用検出 (Lumit™ Anti-Tag) [発光]

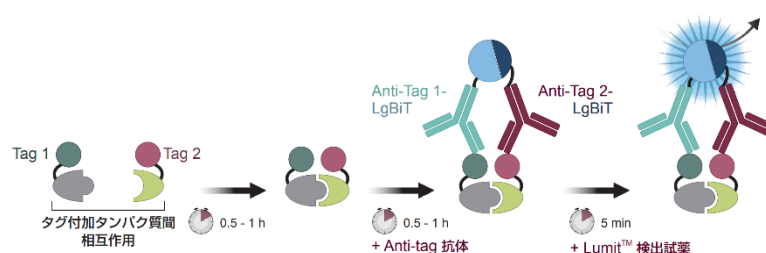


概要 :

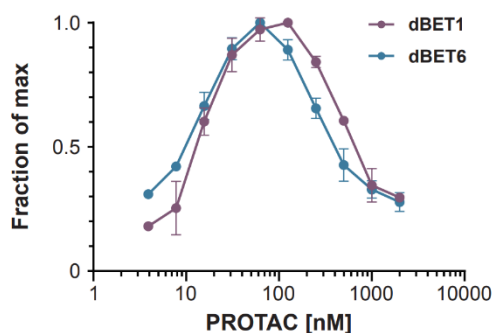
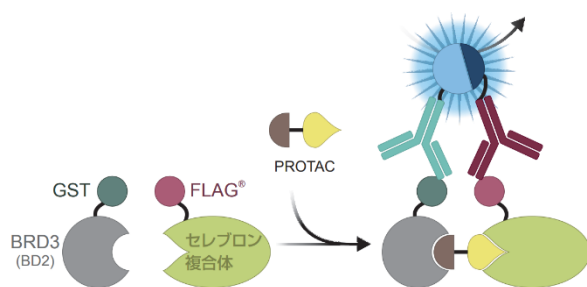
Lumit™ Anti-Tag 試薬には、一般的な親和性タグ（例：His-、Flag®-、GST- タグ、ヒト Fc）に対する SmBiT または LgBiT 標識抗体および これらで標識したストレプトアビジンなどを揃えています（Lumit™ イムノアッセイについては 23 ページを参照ください）。これらのタグを付加したタンパク質ペアがあれば、タンパク質 : タンパク質相互作用（PPI）の研究およびこれらの相互作用を調節する分子のスクリーニングに利用できる生化学的アッセイを容易にセットアップすることができます。さらに、タンパク質と低分子の相互作用についても、シンプルな競合ベースの HTS 対応フォーマットで解析することができます。

操作概要 : 所要時間 (30 – 120 分間)

- タグ 1、タグ 2 を融合したタンパク質ペアに結合阻害剤/促進剤などを添加してインキュベーション
- SmBiT または LgBiT で標識した抗タグ 1、抗タグ 2 を添加、攪拌しながらインキュベート
- GloMax® を用いて発光を測定



Anti-Tag を用いたタンパク質相互作用解析の概要



PROTAC によるタンパク質 : タンパク質 相互作用の誘導モニタリング

PROTAC dBET1 および dBET6 によるセレブロン E3 リガーゼと BRD3 (BD2) の複合体形成能を Lumit™ イムノアッセイで評価した。GST タグおよび FLAG® タグを付加したリコンビナント BRD3 (BD2) (6.25 nM) およびセレブロン (6.25 nM) を、それぞれ異なる濃度の PROTAC と 60 分間インキュベートした。検出には、Lumit™ Anti-GST-LgBiT、Lumit™ Anti FLAG®-SmBiT と Lumit™ Immunoassay Detection Reagent A を使用した。

ここがすごい !

- 一般的なタグ付加タンパク質を利用した相互作用解析アッセイを容易に構築
- 新規な Lumit™ イムノアッセイフォーマットによる簡便な操作性
- 高感度なのでミニチュア化も容易なため HTS フォーマットに対応

製品名
Lumit™ Anti-6His-LgBiT and -SmBiT
Lumit™ Anti-GST-LgBiT and -SmBiT
Lumit™ Anti-FLAG®-LgBiT and -SmBiT
Lumit™ Anti-Human IgG-LgBiT and -SmBiT
Lumit™ Streptavidin-LgBiT and -SmBiT

プロトコル詳細

- KRAS-c-RAF 相互作用アッセイ [[Application Note R](#)]
- PROTAC による複合体形成モニタリング [[Application Note P](#)]
- Cbl-b 自己ユビキチン化モニタリング [[Application Note U](#)]
- キナーゼ : 化合物相互作用モニタリング [[Application Note K](#)]

※上記 Lumit™ Anti-Tag 試薬ラインナップは 2023 年 10 月時点でのものであり、予告なく変更することがありますので予めご了承ください。

標的タンパク質 モニタリング（HiBiT タグ） [発光]

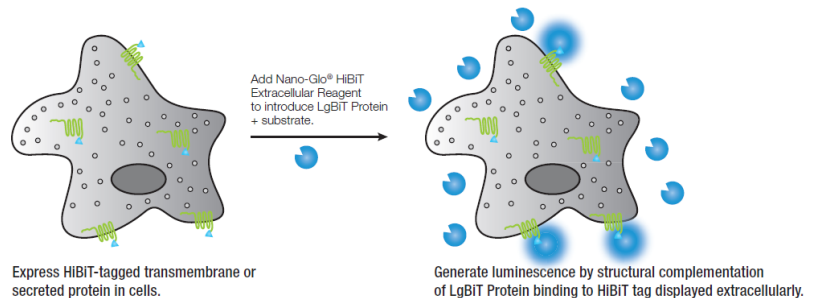
概要：

標的タンパク質の検出には抗体を用いたウェスタンブロットングや ELISA が利用されてきました。しかし、タンパク質検出の成否は抗体の品質に大きく依存します。また、ライセートの調製、ブロットング、洗浄など煩雑な操作が必要のため、スループットに限界があります。プロメガの HiBiT 発光ペプチドタグ（11 アミノ酸）ならば、標準的なクローニング操作（または CRISPR によるゲノム編集）を 1 度行えば、抗体を必要とせず、発光試薬を添加するだけの高感度で簡便な標的タンパク質の定量が可能になります。

検出対象	測定モード	特長	製品名（カタログ番号：最小サイズ）
細胞内タンパク質	発光	細胞溶解成分と LgBiT および発光基質を含む	Nano-Glo® HiBiT Lytic Detection System (N3030)
細胞外タンパク質 （膜タンパク質、分泌タンパク質）		LgBiT と発光基質を含む	Nano-Glo® HiBiT Extracellular Detection System (N2420)
ブロットング膜上のタンパク質		LgBiT と発光基質およびブロットングバッファーを含む	Nano-Glo® HiBiT Blotting System (N2410)

操作概要：HiBiT

- HiBiT ベクターへの標的遺伝子クローニングあるいは PCR により既存発現ベクターに HiBiT 配列を導入し、細胞にトランスフェクション（※短いタグなのでゲノム編集により内在標的遺伝子にノックインすることも容易）
- 標的タンパク質の発現あるいは分解、局在変化させる刺激、薬剤を添加
- 細胞外用検出試薬または細胞内検出試薬を添加して GloMax® で測光する。



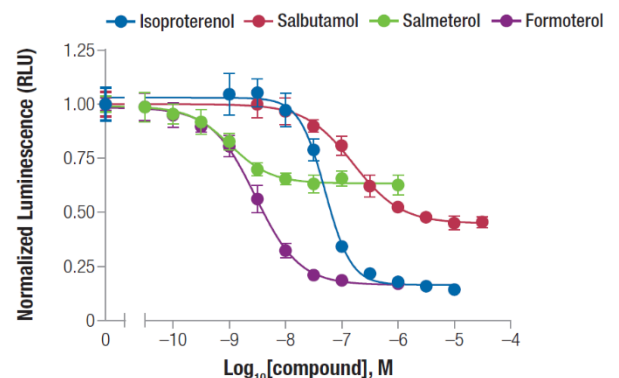
細胞表面の膜タンパク質や分泌タンパク質の発光定量の概要

目的タンパク質に付加された HiBiT と試薬に含まれる LgBiT との強い親和性により発光酵素が再構成される。

※遺伝子改変・安定発現株作成受託についてはお問合せください。

ここがすごい！

- 細胞内タンパク質の定量（Lytic Detection）
- 膜タンパク質または分泌タンパク質の定量（Extracellular Detection）
- HiBiT 融合受容体のインターナリゼーションの検出
- 標的タンパク質分解化合物（PROTAC：Proteolysis Targeting Chimera など）の探索（参考文献参照）
- 簡便なウェスタンブロットング様の検出



プロトコル詳細：

- 発光 細胞内タンパク質検出システム（Nano-Glo® HiBiT Lytic） [\[資料番号 TM516\]](#)
- 発光 細胞外タンパク質検出システム（Nano-Glo® HiBiT Extracellular） [\[資料番号 TM523\]](#)
- 発光 ブロットングタンパク質検出システム（Nano-Glo® HiBiT Blotting） [\[資料番号 TM524\]](#)

各種アゴニスト刺激に伴う HiBiT-β2AR インターナリゼーションの検出

HiBiT を付加した β2AR が CMV プロモーターにより安定発現する HEK 293 細胞を構築した。表示の様々なリガンドで 30 分間処理した後に Nano-Glo® HiBiT Extracellular Reagent を添加し、4 分後に発光を測定した（発光値は未処理細胞の値で補正）。

参考文献

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30540463>

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の“カタログ番号”または“資料番号”で検索ください。 >

標的タンパク質 モニタリング（Lumit イムノアッセイ）

[発光]

New

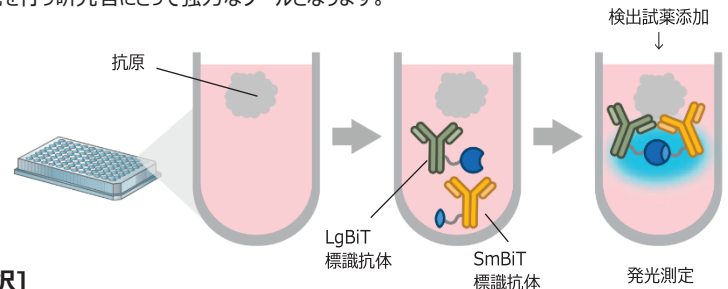
概要：

標的タンパク質の検出と定量は、特異性の高い抗体を利用したウェスタンブロッティングや ELISA などのイムノアッセイが利用されますが、洗浄操作やブロッキングなど煩雑な操作が求められます。Lumit™ テクノロジーは、マルチウェルプレートフォーマットで試薬を加えるだけのホモジニアスイムノアッセイを実現できるので、操作がシンプルで自動化やハイスループットスクリーニングにも容易に適応します。蛍光を利用した FRET 様のイムノアッセイに比べてもより簡便、広いダイナミックレンジ、低コストでの実施が可能で、基礎研究から創薬研究を行う研究者にとって強力なツールとなります。

操作概要：所要時間 約 70 分

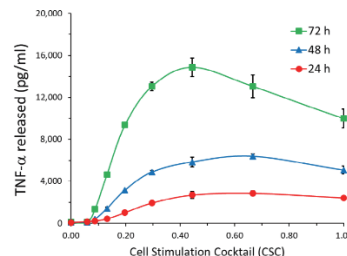
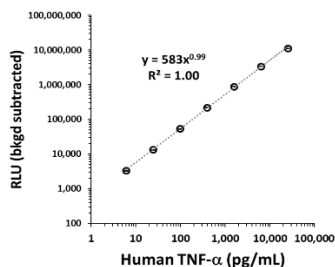
- ・ 培養細胞あるいは培地サンプルをプレート形式で準備
- ・ キットに添付の抗体混合液を添加
- ・ Lumit™ 検出試薬を添加して GloMax® で測光

[GloMax® で “Lumit Immunoassay” プロトコルを選択]



ここがすごい！

- ・ 洗浄、ブロッキングなど煩雑ステップの無い真のホモジニアスイムノアッセイ
- ・ 自動化も容易で、384 ウェルフォーマットにも対応
- ・ 発光法の特性により高感度・広いダイナミックレンジを実現（サンプルの希釈不要）
- ・ プレートリーダーで測定：シンプルな発光測定機能で OK（高価な専用検出装置は不要）
- ・ 抗体さえあればご自身で容易に設計可能（抗体標識キットなど）



希釈の不要な広いダイナミックレンジ

左パネル：Lumit™ TNF-α (Human) で作成した標準曲線。Lumit™ イムノアッセイはダイナミックレンジが広いので、多くの場合サンプルの希釈が不要。右パネル：96 ウェルフォーマットでヒト PBMC (100,000 cells/well) を刺激カクテルで処理、3つのタイムポイントで放出された TNF-α を Lumit™ TNF-α アッセイを用いて測定。TNF-α 濃度は標準曲線より算出した。応答レベルは 60 ~15,000 pg/ml であり、サンプルの希釈を必要としなかった。

測定対象	ダイナミックレンジ	検出限界	カタログ番号
HMGB1 (Human)	4ng/ml-1000ng/ml	1ng/ml	W6110
HMGB1 (Mouse)	3ng/ml-2187ng/ml	3ng/ml	W6110
IFN-γ (Human)	7.3pg/ml-10ng/ml	1.7pg/ml	W6040
IL-1β (Human)	22pg/ml-40ng/ml	10pg/ml	W6010
IL-1β (Mouse)	11pg/ml-20ng/ml	8pg/ml	W7010
IL-2 (Human)	28.2pg/ml-25ng/ml	11.2pg/ml	W6020
IL-4 (Human)	18.2pg/ml-25ng/ml	6.7pg/ml	W6060
IL-6 (Human)	18.2pg/ml-25ng/ml	7.5pg/ml	W6030
IL-10 (Human)	18.2pg/ml-25ng/ml	7.4pg/ml	W6070
TNF-α (Human)	18.2pg/ml-25ng/ml	2.9pg/ml	W6050

測定対象（カスタム品）	
IFN-α2 (Human)	IL-17A (Human)
IFN-α1 (Human)	IL-18, Active (Human)
IFN-β (Human)	MCP-1 (Human)
IL-8 (Human)	TGF-β1 (Human)
IL-12 (Human)	VEGF-A (Human)

※上記 Lumit Assay のラインナップは 2023 年 10 月時点でのものであり、予告なく変更することがありますので予めご了承ください。

プロトコル詳細：

- ・ 発光 標的タンパク質検出システム（例：Lumit™ TNF-α Human Immunoassay）[資料番号 TM689]
- ・ 発光 抗体標識キット（例：Lumit™ Immunoassay Labeling Kit）[資料番号 TM602]

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の “カタログ番号” または “資料番号” で検索ください。 >

セルベース ELISA **[発色]**

概要：

セルベース ELISA は細胞ベースのイムノアッセイであり、細胞内に含まれる特定のタンパク質を抗体および発色試薬により検出・定量します。様々な化合物や薬物が細胞内の標的タンパク質の発現に与える影響を検出することができます。プロメガでは HRP 標識 2 次抗体あるいは簡便な発色試薬 TMB One Solution (G7431) などを販売しています。

検出対象	測定モード	特長	製品名 (カタログ番号: 最小サイズ)
HRP	発色	基質。 便利な 1 液タイプ	TMB One Solution (G7431)
ニワトリ IgY 抗体	発色 (HRP)	ELISA 用二次抗体	Anti-Chicken IgY, HRP (G1351)
ヤギ IgG 抗体			Donkey Anti-Goat IgG HRP (V8051)
ウサギ IgG 抗体			Anti-Rabbit IgG (H&L) HRP (W4011)
マウス IgG 抗体			Anti-Mouse IgG HRP (W4021)
ヒト IgG 抗体			Anti-Human IgG HRP (W4031)

操作概要：

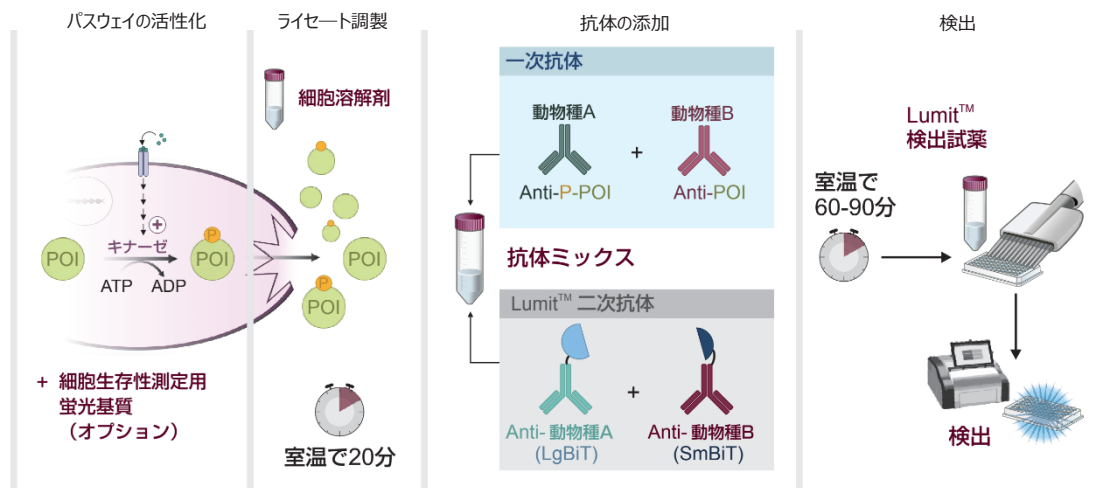
- ・ 細胞を各ウェルで培養し、テスト化合物などで処理
- ・ 培地を除去して、クエンチング、ブロッキングなどを行う
- ・ 一次抗体につづき HRP 標識二次抗体を結合させる
- ・ TMB One Solution を添加し、GloMax[®] (450nm) で測定

[GloMax[®] で “ELISA (Abs 450)” プロトコルを選択]

リン酸化/修飾 タンパク質量 (Lumit イムノアッセイ) [発光]

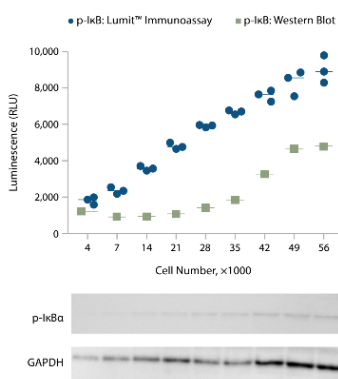
概要 :

遺伝子発現、酵素活性、タンパク質合成・転移などの細胞内応答は多様な細胞内シグナル経路の活性化を通じて調節されています。中でも特定のキナーゼによる標的タンパク質のリン酸化は重要なノード（結節点）となり、上流の活性化イベントが下流の細胞応答へと受け渡されます。細胞ベースでこれらのシグナルイベントをモニタリングすることは正常な細胞のふるまいと疾患ステータスの理解に重要です。現在、タンパク質の検出や翻訳後修飾（例、リン酸化）分析では ELISA やウエスタンブロットなどのイムノアッセイが汎用されていますが、これらの方法は洗浄操作など非常に煩雑で HTS も困難です。プロメガの NanoBiT[®] 発光アッセイ技術を用いた SmBiT/LgBiT で標識された 2 次抗体を用いれば、洗浄操作のいらない簡便で高感度なアッセイが行えます。

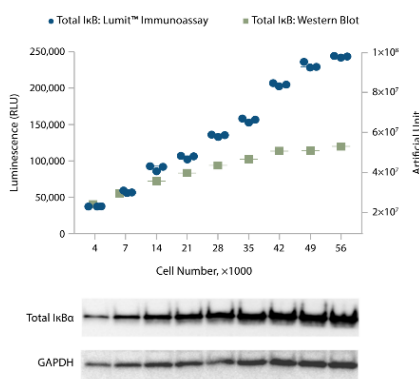


Lumit[™] Immunoassay Cellular System の概要

A パネル



B パネル



ウエスタンブロットティングと Lumit[™] システムとの比較

MCF-7 細胞は MG132 および TNF α で処理し、同じ一次抗体を用いて Lumit[™] Assay または ウエスタンブロットティングでリン酸化 IkBα (A パネル) および Total IkBα [MG132 未処理] (B パネル) を検出した。

操作概要 : 所要時間 約 120 分

- 培養細胞にテスト化合物などを添加し、シグナルパスウェイを活性化
- 細胞を溶解
- 抗体ミックスを添加し、90 分程度インキュベート
- Nano-Glo[®] 検出試薬を添加し、GloMax[®] で測光

製品名	ターゲットタンパク質	リン酸化部位
Lumit [™] Immunoassay Cellular Systems—Complete Assay	ERK	Thr202
	AKT	Ser473
	STAT3	Tyr705
	IkBa	Ser32
	BTK	Tyr223

抗リン酸化標的タンパク質抗体、2 次抗体、検出試薬、細胞生存性測定用試薬、ジギトニンなどで構成 (リン酸化標的タンパク質の定量試薬のみ)

上記以外のリン酸化タンパク質の検出用 Lumit[™] Assay や Lumit[™] 検出用二次抗体については弊社までにお問合せください。

プロテインキナーゼ活性測定 (in vitro) [発光]

概要：

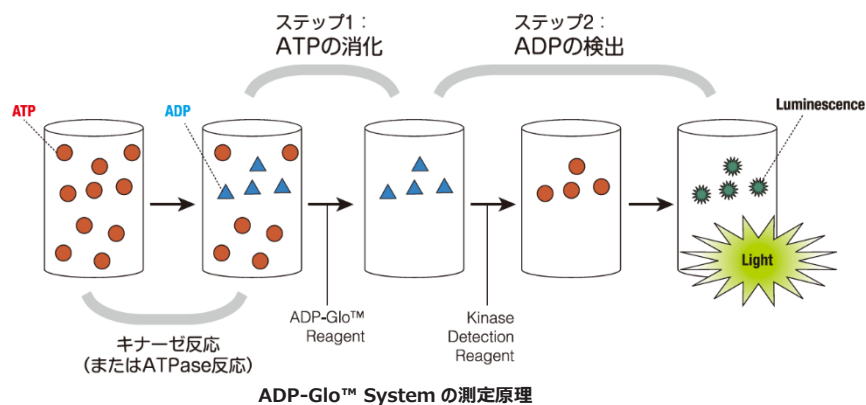
ADP-Glo™ Kinase Assay は、キナーゼ反応で生成する ADP を発光法により測定するキナーゼアッセイシステムです。ADP はキナーゼにより ATP に変換され Ultra-Glo™ Luciferase により発光シグナルが生じます。発光シグナルはキナーゼ活性と正の相関性を有します。このシステムは広範な精製キナーゼの活性に対する化合物の影響を測定する際に有効で、1 次スクリーニングおよびキナーゼ選択性のプロファイリングにも利用することができます。また、ADP-Glo™ Kinase Assay は最大 1mM ATP を使用して ADP を生成するあらゆる酵素（例、キナーゼ、ATPase）の活性をモニタリングすることができます。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。

検出対象	測定モード	特長	製品名（カタログ番号：最小サイズ）
ADP（キナーゼ、ATPase 活性）	発光	最もシンプルで高感度な ADP 生成活性測定	ADP-Glo™ Kinase Assay

操作概要：ADP-Glo™ Kinase Assay

- 384 ウェルプレートでキナーゼ反応を実施
- ADP-Glo™ Reagent を添加し、室温で 40 分間インキュベート
- Kinase Detection Reagent を添加し、室温で 30- 60 分間インキュベート
- GloMax® で測光

[GloMax® で “ADP-Glo” プロトコルを選択]



ここがすごい！

- 高感度で簡便な in vitro キナーゼアッセイ
- ADP を生成するあらゆる酵素活性を測定可能
- キナーゼ阻害剤スクリーニングのグローバルスタンダード

ADP-Glo™ が付属するプロテインキナーゼ（170 種類以上）については以下をご覧ください。

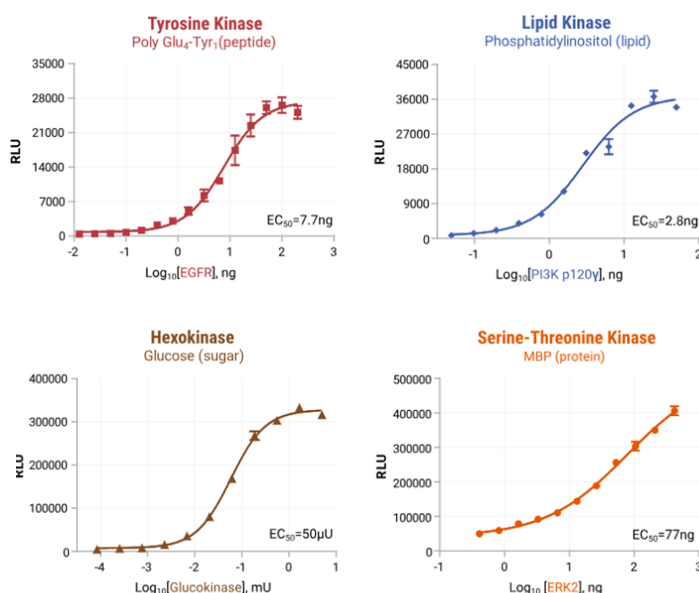
www.promega.co.jp/keslist.html

※その他、キナーゼプロファイリングシステムおよび脂質キナーゼアッセイセットについてはお問合せください。

プロトコル詳細：

- 発光 キナーゼアッセイ (ADP-Glo™ Kinase Assay) [資料番号 TM313]

様々なキナーゼ活性を検出 できるユニバーサルな ADP-Glo™



cAMP リアルタイム/エンドポイントアッセイ [発光]

概要 :

cAMP は Gas および Gai タンパク質を介した GPCR のシグナル伝達に關与する重要なセカンドメッセンジャーです。プロメガは細胞内にバイオセンサーを発現させるリアルタイムアッセイ (GloSensor™) と、細胞を溶解し酵素カップリング反応により cAMP を検出する cAMP-Glo の 2 つを用意しています。1) GloSensor™ 技術をベースにしたリアルタイムアッセイ法では、ホタルルシフェラーゼの内部に cAMP 結合タンパク質の一部を挿入するための遺伝子改変が施されたベクターを生細胞に導入します。発現したバイオセンサーに 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。2) cAMP-Glo™ Max Assay は細胞内の cAMP を発光シグナルとして測定するホモジニアスなハイスループットアッセイシステムです。このアッセイの原理は、cAMP がタンパク質キナーゼ A (PKA) 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 が減少することにより発光が抑えられることに基づきます。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。

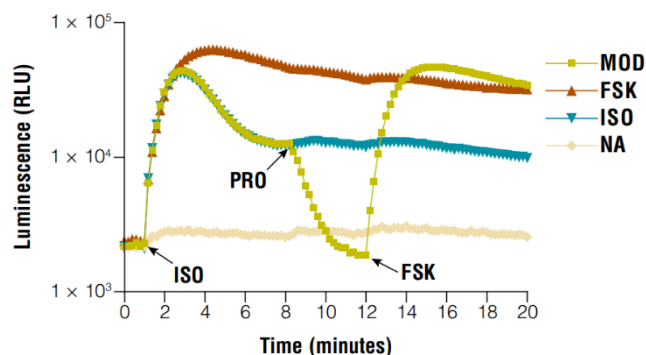
検出対象	測定モード	特長	製品名 (カタログ番号: 最小サイズ)
cAMP (リアルタイム)	発光	cAMP 検出発光センサー (cAMP が結合する改変ルシフェラーゼ) 発現ベクター	pGloSensor™-22F cAMP Plasmid (E2301)
		cAMP 検出発光センサー用 発光基質	GloSensor™ cAMP Reagent (E1290)
cAMP (エンドポイント)		ホモジニアス高感度 cAMP アッセイ	cAMP-Glo™ Max Assay (V1681)

操作概要 : (例) GloSensor

- pGloSensor™-22F を HEK293 などの細胞にトランスフェクション
- GloSensor™ cAMP Reagent を含む培地を添加し、室温で 2 時間インキュベート
- テスト化合物を添加し、各タイムポイントで GloMax® で測光
[GloMax® で “GloSensor-cAMP” プロトコルを選択]

ここがすごい !

- 高感度な細胞内 発光 cAMP アッセイ
- 新規なセンサーを細胞に導入すればリアルタイムアッセイが可能
- 細胞を溶解するエンドポイントアッセイなら 30 分でアッセイ完了

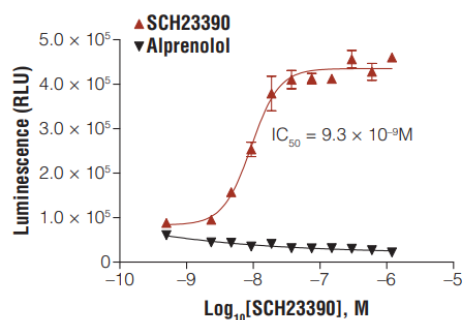


アロステリック cAMP バイオセンサー

生細胞におけるシグナルのカイネティクスと可逆性を示す。cAMP バイオセンサーを一過性に発現する HEK293 細胞を 10mM イソプロレノール (ISO) または 10mM フォルスクリン (FSK) それぞれ単独で処理した。変調を加える細胞は、10 μM ISO, 10 μM プロプラノール (PRO) および 10 μM FSK で連続的に処理した。

プロトコル詳細 :

- 発光 リアルタイム cAMP アッセイ (GloSensor™ cAMP Assay) [資料番号 TM076]
- 発光 エンドポイント cAMP アッセイ (cAMP-Glo™ Max Assay) [資料番号 TM0347]



D1 受容体を発現する HEK293 細胞における SCH23390 の IC₅₀ 決定
384 ウェルプレートの各ウェルに細胞を 3000 個ずつ添加した。細胞は 100nM のアゴニスト, SKF38393 存在下で表示量のアンタゴニスト SCH23390 で処理した。ネガティブコントロール反応では SCH23390 の代わりにアルプレノロールを用いた。測定は cAMP-Glo™ MaxAssay を使用する。

エピジェネティクス関連酵素活性 [発光]

概要：

エピジェネティクス異常はがんを始めとする多くの疾患に関与していることが分かってきており、エピジェネティック制御にかかわる分子は重要な創薬ターゲットとして注目を集めています。ヒストンアセチル化制御にかかわるヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害剤をはじめ、ヒストンメチル化・脱メチル化酵素やそれらの制御因子をコントロールする薬剤の開発が急ピッチで進められています。ここではエピジェネティック制御タンパク質のうち、メチル化・アセチル化関連酵素の高感度発光アッセイをご紹介します。

マーカー	測定モード	特長	製品名（カタログ番号：最小サイズ）
メチル基転移酵素活性	発光	in vitro アッセイ（酵素）。メチル基転移酵素反応で SAM から生成した SAH を発光法により検出	MTase-Glo™ (V7601)
JumonjiC ヒストン脱メチル化酵素（JMJC）活性		in vitro アッセイ（酵素）。酵素カップリング反応で生成したコハク酸を発光法により検出	Succinate-Glo™ JmjC Demethylase/Hydroxylase Assay (V7990)
ヒストン脱アセチル化酵素（HDAC クラス I および II）活性		細胞、酵素などのサンプルを使用可。蛍光法よりも 10-100 倍高感度。阻害剤 トリコスタチン A 添付	HDAC-Glo I/II Assay (G6420)

操作概要：（例）MTase-Glo

- 96 ウェルプレートの各ウェルに酵素液（MTase-Glo™ Reagent を含む）、テスト化合物を添加し 10 分インキュベート
- SAM を添加、混和して反応開始させ、インキュベート
- MTase-Glo™ Detection Solution を添加、混和して 60 分インキュベート
- GloMax® で測光

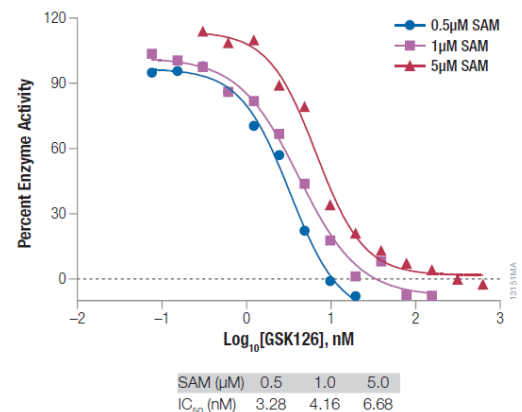
[GloMax® で “MTase-Glo” プロトコルを選択]

ここがすごい！

- “添加-混和-測定” だけの簡便なプロトコル
- 蛍光法に比べ高感度な発光アッセイ
- 発光時間も長いのでハイスループットスクリーニングにも最適

プロトコル詳細：

- 発光 メチル基転移酵素活 アッセイ (MTase-Glo™) [[資料番号 TM453](#)]
- 発光 JmjC 脱メチル化酵素アッセイ (Succinate-Glo™) [[資料番号 TM488](#)]
- 発光 HDAC I/II アッセイ (HDAC-Glo™ I/II) [[資料番号 TM335](#)]



EZH2 酵素複合体反応における GSK126 の IC50 の決定

EZH2 酵素複合体、SAM、完全長のヒストン 3 タンパク質および表示濃度の GSK126 を 384 ウェルプレートに分注し、30°C、60 分間インキュベートした後に MTase-Glo™ Assay を行った。

レポーターアッセイ（高感度 & 標準）＜デュアル＞ [発光]

概要：

デュアルルシフェラーゼアッセイシステムはトランスフェクション効率や細胞数の補正を行うための内部標準用のレポーターと実験レポーターを同じサンプルより取得し、より正確なデータを得るためのアッセイシステムです。従来はトランスフェクション効率の補正などにβガラクトシダーゼや GFP などが利用されていましたが検出系が分かれるため煩雑でした。プロメガは基質の異なる発光酵素 2 種（ホタル & ウミシイタケ）を用いて、簡便な連続測定が行えるデュアルシステムを初めて採用し、安定発現株を作成することなく、非常に高感度で信頼性のあるデータを得ることができるようになりました。さらに、より高感度な NanoLuc[®] ルシフェラーゼとホタルルシフェラーゼを組み合わせれば、内部補正以外の利用（実験レポーター X2 や 転写活性 + タンパク質発現）も可能です。また、従来のレポーターアッセイといえば特定の応答配列/プロモーターを利用した “ジェネティックレポーター” による転写活性の測定でしたが、近年では NanoLuc[®] やその断片を標的タンパク質に融合させて、タンパク質の発現・分解を観察する “プロテインレポーター” としての応用例が増えています。

検出ルシフェラーゼ	測定モード	特長	製品名（カタログ番号：最小サイズ）
NanoLuc & ホタル	発光 (デュアル)	最高感度の NanoLuc [®] 長時間発光タイプ	Nano-Glo [®] Dual-Luciferase [®] (N1610) [NanoDLR]
ホタル & ウミシイタケ		長時間発光タイプ	Dual-Glo [®] Luciferase (E2920)
		短時間発光タイプ。長年の実績。	Dual-Luciferase [®] (E1910)

◀ おすすめポイント
“高感度” (トランスフェクションが困難でも OK)

操作概要：（例）NanoGlo[®] Dual-Luciferase[®]

- 細胞を培養し、薬剤添加などの刺激を与える
- ONE-Glo[™] EX Luciferase Assay Reagent を添加し、混和。3 分後に GloMax[®] ルミノメーターで測光（培地除去 & 洗浄不要）。
- NanoDLR[™] Stop & Glo[®] Reagent を添加し、混和。10 分後に GloMax[®] で測光（培地除去 & 洗浄不要）。

[GloMax[®] で “NanoDLR” プロトコルを選択]

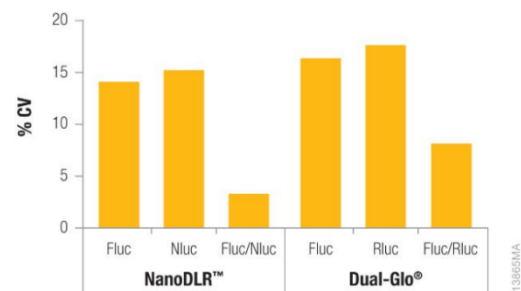
遺伝子改変・安定発現株作成受託についてはお問合せください。

ここがすごい！

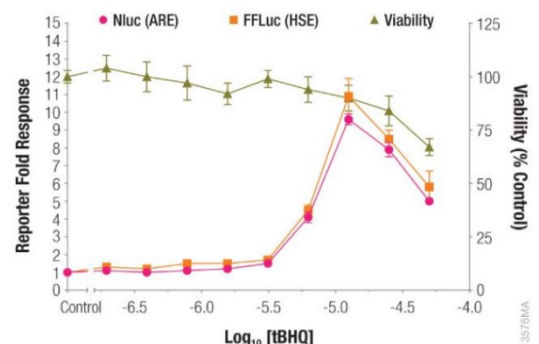
- 最新の NanoLuc[®] はホタルの 100 倍の感度
- トランスフェクションの難しい初代培養細胞や幹細胞などでのレポーターアッセイも可能に
- 転写活性だけでなく、NanoLuc[®] 融合タンパク質の発現も一発アッセイ

プロトコル詳細：

- 長時間発光 高感度 NanoLuc[®] & ホタル デュアルレポーターアッセイ (Nano-Glo[®] Dual-Luciferase[®]) [[資料番号 426](#)]
- 長時間発光 ホタル & ウミシイタケ デュアルレポーターアッセイ (Dual-Glo[®]) [[資料番号 058](#)]
- 発光 ホタル & ウミシイタケ デュアルレポーターアッセイ (Dual-Luciferase[®]) [[資料番号 040](#)]



NanoDLR[™] または Dual-Glo[®] アッセイより得られたデータの変動係数 (CV) の比較



同一サンプルからの抗酸化応答配列 (ARE) および熱ショック応答配列 (HSE) からの応答と細胞生存性マルチアッセイ
HepG2 細胞に pNL[NlucP/ARE/Hygro] および pGL4.41[luc2P/HSE] をトランスフェクションした後、tBHQ で処理し O/N で インキュベーションした。CellTiter-Fluor[™] Cell Viability Assay で細胞生存性を測定した後、HSE および ARE 応答を NanoDLR[™] assay で測定した。

レポーターアッセイ（高感度 & 標準）＜シングル & リアルタイム＞ [発光]

概要：

シングルルシフェラーゼレポーターアッセイは主に安定発現細胞株を用いた実験で利用され、薬剤のスクリーニングなどに汎用されます。新しい NanoLuc[®] ルシフェラーゼはホタルルシフェラーゼの約 100 倍の感度を有しており、よりミニチュア化したアッセイフォーマットにも対応します。リアルタイムアッセイ用の基質も提供しており、経時的なシグナル応答やタンパク質量変化をモニタリングすることも可能です。

検出ルシフェラーゼ	測定モード	特長	製品名（カタログ番号：最小サイズ）
NanoLuc [®] (または NanoBiT [®] などスプリット NanoLuc [®] にも適応 可能)	発光 (シングル)	エンドポイント（細胞溶解）。	Nano-Glo [®] (N1110)
		リアルタイム（生細胞）。発光時間 2 時間	Nano-Glo [®] Live Cell (N2011)
		リアルタイム（生細胞）。発光時間 72 時間程度	Nano-Glo [®] Vivazine [™] (N2580)
		リアルタイム（生細胞）。発光時間 数日程度	Nano-Glo [®] Endurazine [™] (N2570)
ホタル		エンドポイント（細胞溶解）。実績豊富	ONE-Glo [®] EX (E8110)

操作概要：（例）Nano-Glo[®]

- NanoLuc[®]を安定発現する細胞を構築
- テスト化合物で処理
- 細胞溶解成分を含む Nano-Glo[®] Luciferase Assay Reagent を添加
- GloMax[®]で側光

[GloMax[®] で “Nano-Glo” プロトコルを選択]

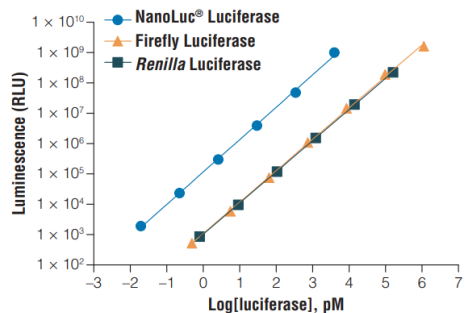
遺伝子改変・安定発現株作成受託についてはお問合せください。

ここがすごい！

- 最新の NanoLuc[®] はホタルの 100 倍の感度
- トランスフェクションの難しい初代培養細胞や幹細胞などでのレポーターアッセイも可能に
- 生細胞をモニタリングするリアルタイムアッセイ用試薬も

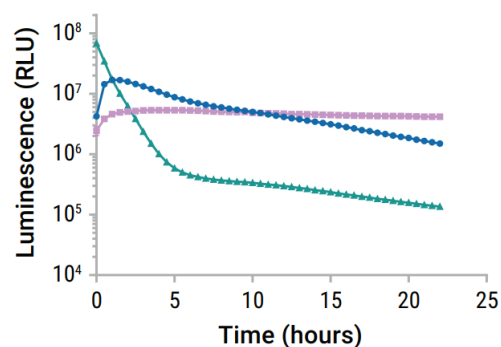
プロトコル詳細：

- 発光エンドポイント NanoLuc[®] レポーターアッセイ (Nano-Glo[®]) [資料番号 TM369]
- 発光リアルタイム NanoLuc[®] レポーターアッセイ (Nano-Glo[®] Live Cell)
[資料番号 9FB195]
- 発光リアルタイム NanoLuc[®] レポーターアッセイ (Vivazine[™] / Endurazine[™])
[資料番号 TM550]
- 発光エンドポイント ホタル レポーターアッセイ (ONE-Glo[®] EX) [資料番号 TM432]



高感度な NanoLuc[®] とホタル/ウミシイタケとの発光レベルの比較

NanoLuc[®] は Nano-Glo[®]、ホタルは ONE-Glo[®]、ウミシイタケは Renilla-Glo[™] で測定した。



Nano-Glo[®] Live Cell Assay System、Endurazine[™]、Vivazine[™] の発光カイネティクス比較

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の “カタログ番号” または “資料番号” で検索ください。 >

タンパク質定量 (Bradford Assay/ BCA Assay) [発色]

概要 :

GloMax® Discover System では Pierce 社の 660nm Protein Assay を用いて迅速、正確に溶液中のタンパク質濃度を測定できます。GloMax® にプリインストールされている“Bradford Assay (Abs 600nm)”プロトコルを用いて、すぐにアッセイを開始することができます。GloMax® Discover System を用いた場合の測定レンジは 125–2,000µg/ml です。

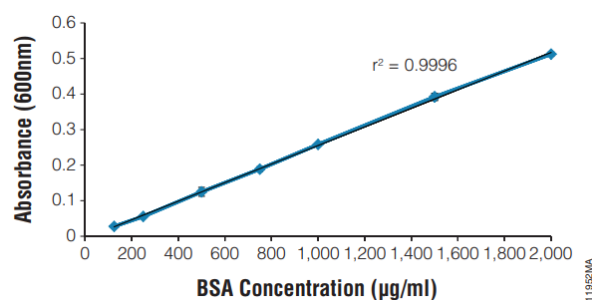
GloMax® Discover System には Pierce 社 BCA Protein Assay 用のプロトコルもプリインストールされています。“BCA Protein Assay (Abs 560)”プロトコルを用いた場合の測定レンジは 25–2,000µg/ml です。

操作概要 :

タンパク質定量 (例 : Pierce 社 660nm Protein Assay [Thermo Scientific Cat.# 22660])

- 調整したスタンダードなどを用いて標準曲線を作成
- スタンダード、未知濃度サンプル、ブランクを 96 ウェルプレートに添加
- Protein Assay Reagent を添加
- プレートプレートシェーカーで中速 1 分程度攪拌し、室温で 5 分間静置
- 600nm の吸光度を GloMax® で測定

[GloMax® で “Bradford Assay (Abs 600)” プロトコルを選択]



GloMax® Discover を用いたタンパク質アッセイ

希釈した BSA スタンダード (125–2,000µg/ml) を Pierce 660nm Protein Assay 試薬に加え GloMax® Discover System を用いて吸光度を測定した。

プロトコル詳細 :

- 発色 660nm Protein Assay [[資料番号 AN247](#)]
- 発色 BCA Protein Assay [[資料番号 AN246](#)]

2 本鎖 DNA 定量 for NGS (QuantiFluor) [蛍光]

概要 :

NGS 解析に要求される核酸の精製度は高く、使用する核酸の量も正確でなければいけません。プロメガの QuantiFluor® 試薬なら添加して測定するだけのフォーマットで、低濃度の dsDNA でも簡便に測定できます。NanoDrop など 吸光度 (260nm) 測定法に比べ低濃度サンプルでの感度は飛躍的に向上します。この蛍光色素は dsDNA に特異性が高く、ssDNA、RNA、タンパク質やその他の化合物への結合は最低限です。イルミナ社 (HiSeq/miSeq) などの NGS システムにも適合します。

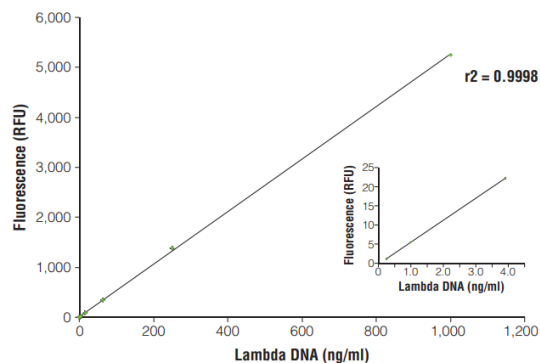
操作概要 : QuantiFluor® ONE dsDNA System

- QuantiFluor® ONE dsDNA Dye を 96 ウェルプレートに分注
- ブランク、スタンダード、未知濃度サンプルをプレートに分注し、5 分間インキュベート
- GloMax® で蛍光測定

[GloMax® で “QuantiFluor ONE dsDNA” プロトコルを選択]

プロトコル詳細 :

- QuantiFluor® ONE dsDNA System [[資料番号 TM405](#)]



96 ウェルプレートフォーマットでの dsDNA 標準曲線

96 ウェル (200µl アッセイフォーマット) で Lambda DNA を使用した。

●プロメガクラブ MAX

プロメガのルミノメーター、プレートリーダーなどをお持ちのユーザー様を対象にしたクラブで、機器のソフト・ファームウェアのアップデート情報や新しいアプリケーションなどをお知らせいたします。さらに、MAX 会員番号をご利用いただくことで、プロメガクラブの通常特典および MAX 会員様専用の優遇特典を受けることができます。

会員条件：弊社機器（Maxwell/GloMax シリーズ等）ご購入者



プロメガクラブ MAX の詳細、MAX 会員番号の入手方法などについては以下のサイトをご覧ください。

www.promega.co.jp/kikiclub/



保守点検

●保守点検サービス

プロメガ株式会社では機器購入後 1 年間の保証期間以降に引き続き加入する機器サービスプランをご用意しています。これにより、お客様の突然の修理費用負担の低減、メンテナンス費用の年間計画に貢献します。期間満了後いつでも契約は更新でき、同時に複数年契約することも可能です。装置のライフサイクル全般にわたって、維持管理費を抑え、かつ安心して装置を使用していただくことができます。お客様が安心して装置を使用し続けることができる環境づくりのために下の 3 つのプランを用意しております。

1. **保守メンテナンス**：定期点検、部品代、作業費を含むトータルサポートを提供します。
2. **パーツ契約メンテナンス**：部品代、作業費をカバーすることによって突然の費用発生をなくします。
3. **定期点検**：年 1 度の機器点検を行うことにより故障を未然に防止します。
4. **IQ & OQ**：GMP、GLP 設備に要求される IQ、OQ のドキュメント、サービスともにご用意しております。

※詳細については弊社までお問合せ下さい。

プロメガ株式会社

技術のお問合せ、カスタム製品については

テクニカルサービス部（TEL: 03-3669-7980 E-mail: prometec@jp.promega.com）までお寄せください。

製品の価格・在庫状況については

カスタマーサポート部（TEL: 03-3669-7981）までお寄せください。

※製品の仕様やその他の掲載情報については 2023 年 11 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。

< 製品の価格、詳細およびプロトコルについては www.promega.jp より上記の“カタログ番号”または“資料番号”で検索ください。 >