

製品構成 & 価格表

コード No.	メーカーコード	製品名	構成内容	容量	保存	希望納入価格 (税別)
386-14361	RS-F100	ReStart LUC _{TM} full Kit	下表参照	100回用	-80℃ ・遮光	¥ 47,000
389-14351	RS-A100	ReStart LUC _{TM} assay Kit	下表参照	100回用	-80℃ ・遮光	¥ 24,000
383-14354	RS-A500			500回用	-80℃ ・遮光	¥ 80,000
385-14353	RS-A1000			1,000回用	-80℃ ・遮光	¥ 130,000

		製品			
		ReStart LUC _{TM} full Kit	ReStart LUC _{TM} assay Kit		
		100回用 (RS-F100)	100回用 (RS-A100)	500回用 (RS-A500)	1,000回用 (RS-A1000)
構成品	RS発光基質 (凍結乾燥品)	1本	1本	5本	10本
	RS発光基質溶解液 (10 ml)	1本	1本	5本	10本
	C Protein試薬 (200 µl)	1本	1本	5本	10本
	N Protein試薬 (100 µl)	1本	1本	5本	10本
	N Protein試薬 希釈液 (900 µl)	1本	1本	5本	10本
	C Protein Control Vector (0.5 µg/µl, 20 µl)	1本	—	—	—
	C Protein Test Vector (0.5 µg/µl, 20 µl)	1本	—	—	—

・本製品には東洋ビーネット株式会社及び共有特許権者である東洋インキSCホールディングス株式会社が保有する複数の特許技術が採用されています。ご購入いただく際には事前に「購入同意書」のご提出をお願い致します。詳細は弊社までお問い合わせください。

- 本パンフレットに掲載している製品は、試験・研究の目的にのみご使用されるものであり、「医薬品」、「食品」、「家庭用品」などとしては使用できません。
- 価格には別途消費税がかかります。
- 希望納入価格は2018年10月現在の情報です。予告なく変更する場合がございますので予めご了承ください。

製造元 東洋ビーネット株式会社 バイオプロダクツ部

東京都中央区京橋二丁目2番1号 Tel : 03-3272-1954
E-mail: bio@toyo-b-net.co.jp
URL: <http://www.toyo-b-net.co.jp>

販売元 富士フイルム 和光純薬株式会社

本 社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL 06-6203-3741 (代表)

東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL 03-3270-8571 (代表)

●九州営業所 ●中国営業所 フリーダイヤル 0120-052-099

●東海営業所 ●横浜営業所 フリーファックス 0120-052-806

●筑波営業所 ●東北営業所 試薬URL: <https://labchem.wako-chem.co.jp>

●北海道営業所



ReStart LUC_{TM} キット

TOYOINKGROUP

東洋ビーネット株式会社

「タンパク質の局在 & 移行」を高感度に解析できます

主な用途

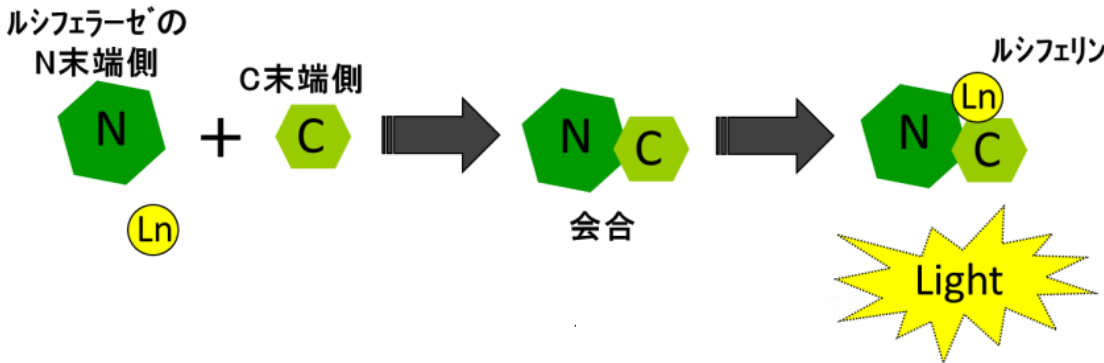
- ・ 分泌タンパク質の局在/分泌量のモニタリング
- ・ 細胞膜表面における膜タンパク質の発現解析
- ・ チャネル異常の研究

●測定原理

特定の位置で切断して生物発光能を失活させた北米産ホタルルシフェラーゼを再構成することにより、発光能を回復させます。

その際、ルシフェラーゼのC末端側を検出タグとすることで、以下のような解析を行なうことができます。

- ①分泌シグナルの解析(解析例Ⅰ・Ⅱ)
- ②タンパク質の細胞内小器官移行解析(解析例Ⅲ)



ホタル・ルシフェラーゼはその大きさから細胞膜を透過できませんが、ReStart LUC_{TM}は、細胞膜を透過できるルシフェラーゼ断片をターゲットタンパク質に融合発現させることで膜透過可能な検出Tagとして使用できます。

●特長

- 【信頼性】 使用実績が最も高い北米産ホタル・ルシフェラーゼを採用
- 【迅速】 発光測定まで約10分
(検出操作はルシフェラーゼを再構築させて発光反応測定を行なうだけ)
- 【高感度】 高SN比により、微量な分泌量の差異も判別可能

分泌タンパク質のモニタリング解析

ステップ①

北米産ホタルルシフェラーゼのC末端側(C Protein)遺伝子とシグナルペプチド遺伝子を結合させ、細胞に導入して発現させる。

ステップ②

分泌されたシグナルペプチドを含む培地に、北米産ホタルルシフェラーゼのN末端側(N Protein)を含むN Protein試薬を添加してルシフェラーゼを再構成し、発光量を測定する。

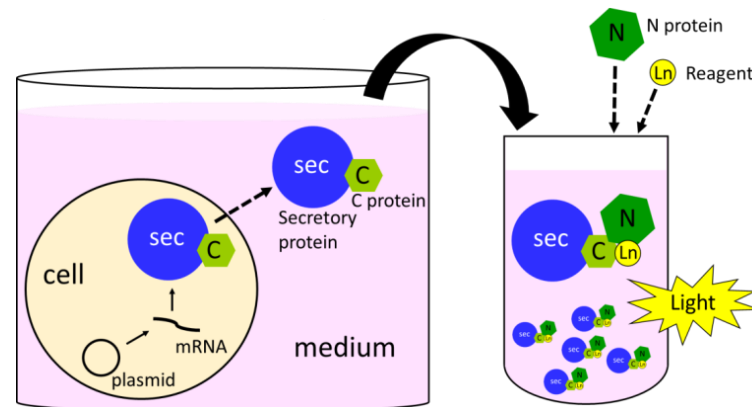
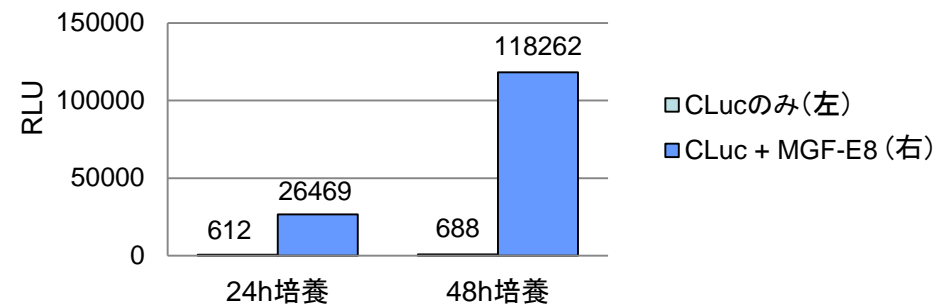


図1. 分泌シグナルペプチドの解析方法

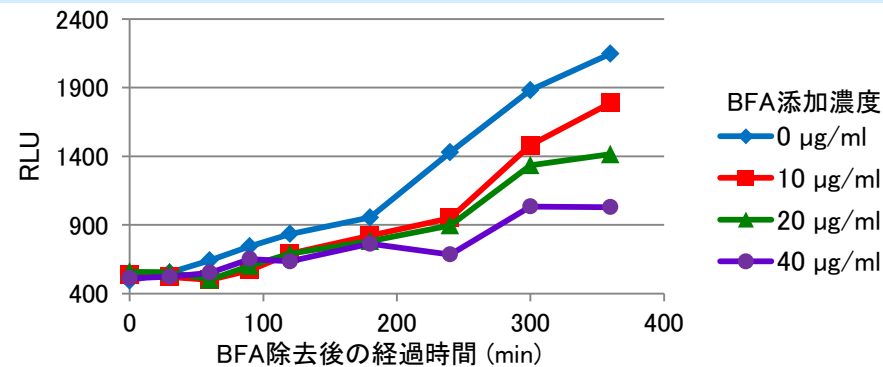
【解析例Ⅰ】 分泌タンパク質の細胞外(培地中)への移行解析①



CHO細胞に、“C Proteinのみを発現するように開始コドンのみを挿入したC Protein Test Vector +ATG(CLucのみ)”または“分泌タンパク質(Milk Growth Factor-E8)とC Proteinの融合タンパク質を発現するC Protein Control Vector (CLuc + MGF-E8)”をトランスフェクションした。24時間または48時間培養後、培地を回収し、N Protein試薬を添加してルシフェラーゼを再構成させ、RS発光試薬を加えて発光量を測定した。

➡ コントロールベクターを導入した細胞の培養上清中には、MGF-E8とC Proteinの融合タンパク質が分泌されたため、発光を確認できた(グラフ:MGF-E8)。

【解析例Ⅱ】 分泌タンパク質の細胞外(培地中)への移行解析② ～阻害剤による影響～



CHO細胞に、“分泌タンパク質(Milk Growth Factor-E8)とC Proteinの融合タンパク質を発現するC Protein Control Vector”をトランスフェクションした。24時間培養後、Brefeldin A (BFA)を添加した培地に培地交換した。1時間後にBFA入りの培地を除去し、PBSで洗浄後、BFAを含まない新しい培地に再交換した。培地交換から一定時間後に培地を回収し、N Protein試薬を添加してルシフェラーゼを再構成させ、RS発光試薬を加えて発光量を測定した。

➡ BFA処理による細胞外への分泌阻害を確認できた。また、阻害からの回復時間は、BFA濃度に比例していた。

膜タンパク質の細胞膜表面への移行解析

ステップ①

細胞膜上に発現するよう設計されたベクターに北米産ホタルルシフェラーゼのC末端側(C Protein)遺伝子を導入し、細胞で発現させる。

ステップ②

北米産ホタルルシフェラーゼのN末端側(N Protein)を含むN Protein試薬を添加し、細胞膜上でルシフェラーゼを再構成して発光量を測定する。

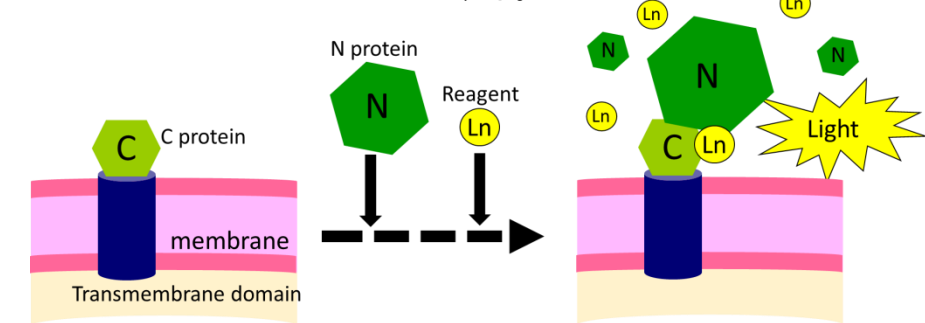
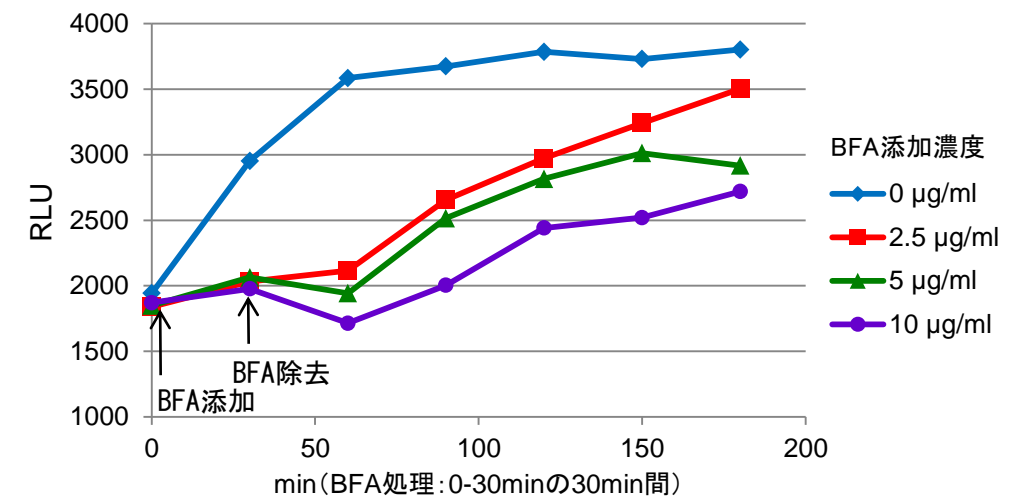


図2. タンパク質の細胞内移行解析方法

【解析例Ⅲ】 タンパク質の細胞膜表面への移行解析 ～阻害剤による影響～



CHO細胞に、pDisplay Vector(Sigma社)にC Proteinを導入したプラスミド(pDisplay-C Protein)をトランスフェクションした。24時間培養後、トリプシン-EDTAで細胞をはがして回収した。回収した細胞を各濃度のBrefeldin A (BFA)で30分間処理し、BFAを含まない新しい培地に再交換した。一定時間毎に細胞を回収し、N Protein試薬を添加してルシフェラーゼを再構成させた後、RS発光試薬を加えて発光量を測定した。

➡ BFA処理による細胞表面への移行阻害が確認できた。また、阻害からの回復時間は、BFA濃度に比例していることが分かる。

※本解析では、細胞を剥がす際にトリプシン-EDTAを使用しているため、回収直後の細胞では細胞膜表面上のC Proteinは分解されている。BFA処理後の経過時間中に発現したC Protein量を発光量として確認している。