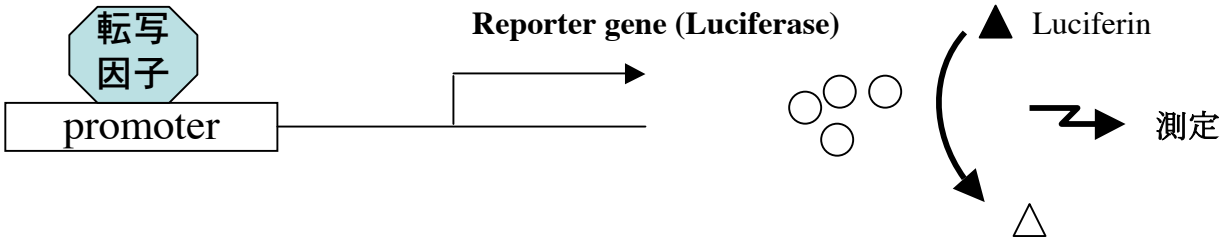
<Luciferase assay>

0. Promoterに対する転写因子、転写調節因子の活性をLuciferaseをReporterとして測定する。



1. 準備

Lysis buffer (1x)

2. Procedure

Day 1

細胞をまく{1～4 x 10^5 cells / well (12 or 24 well plate), duplicateで行う}

293T : 2 x 10^5 cells / well / 12 well plate or 1 x 10^5 cells / well / 24 well plate
HepG2 : 4 x 10^5 cells / well / 12 well plate
Mv1Lu : 2 x 10^5 cells / well / 12 well plate
R4-2 : 2 x 10^5 cells / well / 12 well plate or 1 x 10^5 cells / well / 24 well plate

Day 2

Transfection
Reporter (-luc)
pRL-TK, pRL- CMV, β-gal (CH110) (補正用)

Day 3

Cells (12 or 24 well plate)

↓ PBS wash x 1（293Tの場合は省略）
↓ add 150 μl of Lysis buffer
↓ rotate 20 min, RT （この時発光試薬、 2 x β-gal solu.を溶かしておく）
↓ to microtube
↓ 15000 rpm, 10 min, 4°C
sup

<Luciferase assay>
15 μl
↓ to 96 well plate (白色)
発光試薬を機械に設置し測定①

< β-gal assay（Transfection効率の補正）>
30 μl
↓ to 96 well plate (透明)
↓ add 30 μl of 2 x β-gal solu.
↓ 37°C, 0.5h ~ O/N (液が黄色になるまで)
2Fのplate readerで測定②

計算 ① / ②を計算 (s.dをつける)