

Firefly Luciferase Reporter Gene Assay Kit

萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1611A	萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	100T
BL1611B	萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	1000T

产品简介:

萤火虫萤光素酶是一种分子量约为 61kD 的蛋白, 在 ATP、镁离子和氧气存在的条件下, 可以催化 luciferin 氧化成 oxyluciferin, 在 luciferin 氧化的过程中, 会发出波长为 560nm 左右的生物萤光。生物萤光可以通过化学发光仪或液闪测定仪进行测定。通过萤光素和萤光素酶这一生物发光体系, 可以非常灵敏、高效地检测基因的表达。通常把感兴趣基因的转录调控元件或 5'启动子区克隆在 luciferase 的上游, 或把 3'-UTR 区克隆在 luciferase 的下游等, 构建成报告基因质粒。然后转染细胞, 用适当药物等处理细胞后裂解细胞, 测定萤光素酶活性。通过萤光素酶活性的高低来判断药物等处理对目的基因的转录调控作用。

萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒是一种以萤光素(luciferin)为底物高信号稳定性检测萤火虫萤光素酶(firefly luciferase)活性的试剂盒。

产品特点:

发光信号稳定, 发光强度高: 1 分钟内信号基本保持稳定, 信号变动不超过 2%, 3 分钟内的信号变动不超过 5%, 5 分钟内信号波动不超过 10%, 信号半衰期约 40 分钟, 特别适用于待测样品数量较多的 96 孔板中进行萤火虫萤光素酶活性的多孔测定。

操作简单, 读数稳定, 检测速度快, 从样品制备到完成检测仅需约 20 分钟: 本试剂盒中提供的萤火虫萤光素酶检测试剂为即用型试剂, 只需将 100 μ l 萤火虫萤光素酶检测试剂与 20-100 μ l 裂解制备的细胞样品混合后即可立即进行化学发光检测。并且发光信号比较稳定, 通常 5 分钟内信号下降不超过 10%。

稳定性好: 本试剂盒中的萤火虫萤光素酶检测试剂的稳定性非常好, 反复冻融 5 次对检测效果无明显影响, 反复冻融 10 次检测效果下降不超过 10%。在 4 $^{\circ}$ C 条件下, 保存 3 天检测效果下降不超过 20%, 保存 5 天检测效果下降不超过 30%, 保存 7 天仍可保留 60%以上的检测效果。在室温保存 1 天可保留 70%以上的检测效果, 室温保存 3 天可保留 60%以上的检测效果, 37 $^{\circ}$ C 保存 1 天可保留 50%以上的检测效果。萤火虫萤光素酶检测试剂即使仅保留约 50%的检测效果, 仍可以满足各种常规检测的要求。

产品组分:

产品编号	产品名称	BL1611A	BL1611B
1	报告基因细胞裂解液	60ml	10 \times 60ml
2	萤火虫萤光素酶检测试剂	10ml	10 \times 10ml

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



使用方法:

1、裂解细胞：将报告基因细胞裂解液充分混匀后，按如下方式加入报告基因细胞裂解液，充分裂解细胞。

(1) 对于贴壁细胞：吸尽细胞培养液后，参考下表加入适量的报告基因细胞裂解液；对于悬浮细胞：离心去上清后，参考下表加入适量报告基因细胞裂解液。

器皿类型	96 孔板	48 孔板	24 孔板	12 孔板	6 孔板
报告基因细胞裂解液(μl /孔)	100	150	200	300	500

注意：如果萤光素酶的表达水平比较低，可以尝试使用更少的裂解液，例如 6 孔板的每孔用量可以最小为 100 μl 。

(2) 充分裂解后，10,000-15,000g 离心 3-5 分钟，取上清用于测定。

注意：细胞裂解后可立即测定萤光素酶，也可以先冻存，待以后再测定。冻存样品需融解，并达到室温后再进行测定。

2、融解萤火虫萤光素酶检测试剂，并达到室温。

3、按仪器操作说明书开启化学发光仪或具有检测化学发光功能的多功能酶标仪，可以将测定间隔设为 2 秒，测定时间设为 10 秒，或者根据仪器设备的要求并根据实验需要设置适当的间隔时间和测定时间。

4、使每个样品测定时，取样品 20-100 μl (如果样品量足够，请加入 100 μl ；如果样品量不足可以适当减少用量，但同批样品的使用量宜保持一致)，取等体积的报告基因细胞裂解液作为空白对照。

5、各孔加入 100 μl 萤火虫萤光素酶检测试剂，用枪打匀或用其它适当方式混匀后测定 RLU (relative light unit)。

注意事项:

1、报告基因细胞裂解液 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存 3 个月有效，-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存一年有效，-80 $^{\circ}\text{C}$ 可以长期保存；萤火虫萤光素酶检测试剂-80 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存，至少一年有效；-20 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存，推荐 3-6 个月内使用。

2、为取得最佳测定效果，在用单管的化学发光仪测定时，样品和测定试剂混合后到测定前的时间应尽量控制在相同时间内，例如 30 秒内；使用具有化学发光测定功能的多功能荧光酶标仪时，宜先把样品全部加好，然后统一加入萤火虫萤光素酶检测试剂。

3、由于萤光素酶的活性对温度比较敏感，所以反应前样品和检测试剂均需达到室温后再进行测定。可将萤火虫萤光素酶检测试剂在室温或不超过 25 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴中融解并混匀后使用。

4、尽管经测试萤火虫萤光素酶检测试剂反复冻融 5 次对其检测效果无明显影响，为保证萤光素酶检测试剂的稳定性、取得良好的使用效果，第一次解冻后可以采取适当分装后避光保存的方法，以避免反复冻融和长时间暴露于室温。

5、检测时需使用白色或黑色的 96 孔板。如果使用普通透明的 96 孔板，相邻孔之间会产生相互干扰。

6、样品和测定试剂混合后，必须等待 1-2 秒，再进行测定。测定时间通常为 10 秒，根据情况也可以测定更长或更短时间，但是同一批样品宜使用相同的测定时间。

7、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。





保存条件:

-80℃避光保存, 一年有效。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

电话: 400-600-4213

邮箱: techserv@labgic.com

