

Bright-Luc Firefly Luciferase Reporter Gene Assay Kit

Bright-Luc 萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒（预混）

产品编号	产品名称	规格
BL1604A	Bright-Luc 萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒（预混）	100T
BL1604B	Bright-Luc 萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒（预混）	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 左右的生物荧光。生物荧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。

Bright-Luc 萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒是一种无需洗涤或收集细胞的通过化学发光法直接测定细胞内萤火虫萤光素酶活性的超高灵敏度、高信号稳定性的一步法检测试剂盒。本试剂盒提供的 Bright-Luc 萤火虫萤光素酶检测试剂，按照与培养液等体积的比例加入到细胞培养板内反应 5 分钟，即可进行化学发光检测。本试剂盒使用灵活便捷、检测灵敏度高、测定样品的线性范围宽。另外，本产品也可以用于裂解并收集保存的细胞样品的检测。

本产品为即用型液体，无需配制即可以直接使用。

产品特点:

检测灵敏度高，测定样品的线性范围宽：96 孔板中，通常本产品可以在 20 万个细胞范围内呈现良好的线性关系。不同的细胞、不同的萤光素酶表达水平时的检测细胞数量的上限可能有所差异，当萤火虫萤光素酶表达水平很高时，可能只在 10 万个细胞范围有良好的线性关系，但是化学发光读数还是会随着细胞数量的增加而继续升高的。

操作简单，读数稳定，检测速度快，完成整个检测流程仅需约 10 分钟：细胞可以在同一块多孔板中培养和检测，无需洗涤细胞，也无需更换或去除培养液，只需把试剂盒提供的 Bright-Luc 萤火虫萤光素酶检测试剂与培养细胞等体积混合，反应 5 分钟后即可进行化学发光检测。并且产生的化学发光信号相对比较稳定，在反应开始后的 30 分钟内，每分钟化学发光信号下降通常不超过 1%。使用可以测定 96 孔板的化学发光的多功能酶标仪通常在 2 分钟内就可以完成一块 96 孔板的检测。

稳定性好：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%。本产品 4℃ 条件下，保存 3 天检测效果下降不超过 20%，保存 7 天仍可保留 60% 以上的检测效果。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 55% 以上的检测效果，37℃ 保存 1 天可保留 50% 以上的检测效果。本产品即使仅保留约 50% 的检测效果，仍可以满足各种常规检测。

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。



使用灵活便捷：本产品不仅适合少量样品的检测，也非常适合大量样品的高通量检测。本产品可以等体积加入到细胞培养孔中进行直接检测。

兼容性强：本产品兼容各种常见培养液，正常培养液中的酚红、10%以内的胎牛血清或小牛血清、2%以内的 DMSO 或乙醇对信号和稳定性基本没有影响，常用的盐类或金属离子在正常浓度下也基本没有影响。

使用方法：

一、细胞的准备

使用适合进行化学发光检测的 96 孔板，每孔接种 100 μ l 细胞(如使用 384 孔板，每孔接种 25 μ l 细胞，具体用量视不同类型的 384 孔板而定)，同时设置不含细胞的培养液孔作为阴性对照，按照细胞培养和细胞转染的常规方法培养和转染细胞。如有需要，可加入药物处理细胞。

二、检测试剂的准备

融解冻存的 Bright-Luc 萤火虫萤光素酶检测试剂，按照 96 孔板每孔 100 μ l (384 孔板每孔 25 μ l) 的量，取适量 Bright-Luc 萤火虫萤光素酶检测试剂，平衡至室温。建议细胞培养液和检测试剂体积的比例为 1:1。

三、萤光素酶检测

1、取出细胞培养板在室温平衡 10 分钟（通常不宜超过 30 分钟）。

2、96 孔板每孔加入 100 μ l Bright-Luc 萤火虫萤光素酶检测试剂（384 孔板每孔 25 μ l）。

3、室温孵育 5 分钟，使发光信号趋于稳定。

4、使用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪进行化学发光检测。请根据仪器要求设置相应的参数，每个孔的检测时间一般为 0.25-1 秒或更长时间，具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。

四、裂解并收集细胞后的检测（本步骤仅当细胞量比较大的情况下，例如细胞培养在培养皿或 6 孔板中时，可以考虑采用）

1、对于贴壁细胞：吸尽细胞培养液后，参考下表加入适量的萤火虫萤光素酶报告基因细胞裂解液；对于悬浮细胞：离心去上清后，参考下表加入适量萤火虫萤光素酶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(μ l/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 μ l。

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。

3、取 20 μ l 样品，加入 100 μ l 已经融解并平衡至室温的 Bright-Luc 萤火虫萤光素酶检测试剂，适当混匀。

4、室温孵育 5 分钟，使发光信号趋于稳定。

注意：如果对于数据的稳定性的要求不太高，可以忽略本步骤，在混匀后立即进行化学发光检测。

5、使用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪进行化学发光检测。请根据仪器要求设置相应的参数，每个孔的检测时间一般为 0.25-1 秒或更长时间，具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。



注意事项:

1、本产品在-20℃保存，其检测效果会逐渐下降，保存半年后其发光效果会降低约 50%。因此，本产品如果保存于-20℃，推荐在 3-6 个月内使用。

2、由于萤光素酶的活性对温度比较敏感，所以反应前细胞和检测试剂均需达到室温后再进行测定。可将检测试剂在室温或不超过 25℃的水浴中融解并混匀后使用。

3、尽管经测试本试剂反复冻融 5 次对于检测效果无显著影响，为保证本产品的稳定性、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。反复冻融过程中，可能会导致检测试剂中出现少量沉淀，此时宜平衡至室温，并尽量溶解。如仍有残留的不溶物，可以离心去除后使用，经测试不会影响后续的检测效果。

4、请使用适合于细胞培养的白色或黑色的 96 孔板或 384 孔板。如果使用普通透明的 96 孔板或 384 孔板，相邻孔之间会产生相互干扰。

5、待测药物的溶剂含量较高时可能会干扰萤光素酶反应，从而影响化学发光信号。可以通过设置含有溶剂的细胞培养液对照孔排除溶剂的干扰。经测试，最终反应体系中 DMSO 含量在 2%以内不会对反应产生影响。

6、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。

7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件:

-80℃避光保存，一年有效；-20℃避光保存，推荐 3-6 个月内使用。

