

## Renilla Luciferase Reporter Gene Assay Kit

### 海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1612A	海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒	100T
BL1612B	海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒	1000T

#### 产品简介:

海肾萤光素酶是一种分子量约为 36kD 的蛋白,在氧气存在的条件下,可以催化 Coelenterazine 氧化成 Coelenteramide。在 Coelenterazine 氧化的过程中,会发出生物荧光。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处理等对目的基因的转录调控作用。海肾萤光素酶一方面常用作萤火虫萤光素酶报告基因检测的内参,以消除由于质粒的转染效率不同而带来的误差;另一方面海肾萤光素酶也可以和萤火虫萤光素酶一样被用于常规的报告基因检测。

海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒是一种以肠腔素(Coelenterazine)为底物来检测海肾萤光素酶活性的试剂盒。海肾萤光素酶催化 Coelenterazine 发光的最强发光波长为 465nm。

#### 产品特点:

**操作简单,检测速度快,从样品制备到完成检测仅需约 20 分钟:**只需把试剂盒提供的海肾萤光素酶检测底物和海肾萤光素酶检测缓冲液按照 1:100 的比例混合配制成海肾萤光素酶检测工作液,再取 100 $\mu$ l 海肾萤光素酶检测工作液与 20-100 $\mu$ 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。

**稳定性好:**本试剂盒中的海肾萤光素酶检测缓冲液和海肾萤光素酶检测底物(100 $\times$ )的稳定性均较好。海肾萤光素酶检测缓冲液反复冻融 10 次、4 $^{\circ}$ C 或室温保存 3 天对检测效果基本无影响,37 $^{\circ}$ C 保存 1 天仍可保留 90%以上的检测效果。海肾萤光素酶检测底物(100 $\times$ )在 4 $^{\circ}$ C 保存 1 周、室温保存 1 天检测效果下降不超过 10%,室温保存 3 天、37 $^{\circ}$ C 保存 1 天,仍可保留 80%以上的活力。

#### 产品组分:

产品编号	产品名称	BL1612A	BL1612B
1	海肾萤光素酶报告基因细胞裂解液	60ml	10 $\times$ 60ml
2	海肾萤光素酶检测缓冲液	10ml	10 $\times$ 10ml
3	海肾萤光素酶检测底物(100 $\times$ )	100 $\mu$ l	10 $\times$ 100 $\mu$ l

#### 使用方法:

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。



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( $\mu\text{l}$ /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 $\mu\text{l}$ 。

(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。

2、融解海肾萤光素酶检测缓冲液，并达到室温。海肾萤光素酶检测底物（100 $\times$ ）置于冰浴或冰盒上备用。

3、按照检测每个样品需 100 $\mu\text{l}$  检测工作液的量，配制适量海肾萤光素酶检测工作液。按照 1:100 的比例混合适量海肾萤光素酶检测底物（100 $\times$ ）和海肾萤光素酶检测缓冲液，即配制成海肾萤光素酶检测工作液。例如，1ml 海肾萤光素酶检测缓冲液中加入 10 $\mu\text{l}$  海肾萤光素酶检测底物（100 $\times$ ）充分混匀后即可配制成约 1ml 海肾萤光素酶检测工作液。

4、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。

5、每个样品测定时，取样品 20-100 $\mu\text{l}$ （如果样品量足够，请加入 100 $\mu\text{l}$ ；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。

6、加入 100 $\mu\text{l}$  海肾萤光素酶检测工作液，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、海肾萤光素酶报告基因细胞裂解液和海肾萤光素酶检测缓冲液，4 $^{\circ}\text{C}$  保存 3 个月有效，-20 $^{\circ}\text{C}$  保存一年有效；海肾萤光素酶检测底物（100 $\times$ ），-20 $^{\circ}\text{C}$  避光保存 6 个月有效，-80 $^{\circ}\text{C}$  避光保存一年有效。

2、海肾萤光素酶检测工作液宜配制后立即使用。如不能立即使用，-20 $^{\circ}\text{C}$  可以保存一周。随着保存时间的延长检测效果会不断下降，因此不可配制成工作液后长期保存。

3、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，然后统一加入海肾萤光素酶检测工作液。

4、本试剂盒的海肾萤光素酶检测缓冲液在反复冻融过程中，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，混匀后直接使用，经测试通常不会影响后续的检测效果。

5、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。

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。

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。





7、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。

8、海肾萤光素酶检测底物（100×）配制在无水乙醇中。由于无水乙醇容易挥发，有时会在初次使用时发现体积明显小于 100 $\mu$ l 的情况，此时用无水乙醇把体积补足至 100 $\mu$ l，并混匀后即可使用。

9、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。

10、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 $^{\circ}$ C 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

