萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒

包装清单

Cat No.	组分	包装规格-100T
MCK-0032	报告基因细胞裂解液	60 mL
	萤火虫萤光素酶检测试剂	10 mL
	说明书	1 份

产品简介

默科的萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(Firefly Luciferase Reporter Gene Assay Kit)，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。

本产品为即用型液体，其优点是无需配制即可直接使用，但需要-80℃保存，如果在-20℃保存时间较长后检测效果会逐渐下降。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，会发出生物萤光(bioluminescence)。生物萤光可以通过化学发光仪(luminometer)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(reporter gene)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。

萤光素、萤光素酶、萤火虫萤光素酶和海肾萤光素酶也经常被称作荧光素、荧光素酶、萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶。萤火虫萤光素酶催化 luciferin 发光的最强发光波长为 560nm (centered around 560nm)。本试剂盒 100T 和 1000T 分别可以测定 100 个和 1000 个样品。

本产品具有以下一些优点：

1. 本产品发光信号稳定。本产品的发光信号稳定性相对比较好，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。

2. 本产品发光强度高，可以满足各种常规检测。如果样品中萤火虫萤光素酶的表达水平非常低时，推荐使用发光强度和灵敏度更高的萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(增强型)。

3. 本产品操作简单，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 100μL 萤火虫萤光素酶检测试剂与 20-100μL 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%。

4. 本产品稳定性好。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℃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℃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。

保存条件

报告基因细胞裂解液 4℃保存，有效期 3 个月；-20℃保存，有效期 1 年；-80℃可以长期保存。

萤火虫萤光素酶检测试剂-80℃避光保存，有效期 1 年；-20℃避光保存，推荐 3-6 个月内使用。

注意事项

1. 萤火虫萤光素酶检测试剂在-20ºC 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-20ºC，推荐在 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 25º 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。

使用说明

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：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 100μL 升。

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

注：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. 每个样品测定时，取样品 20-100μL(如果样品量足够，请加入 100μL；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 100μL 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)。