

Single Firefly Luciferase Reporter Gene Assay Kit

产品描述

萤火虫萤光素酶（Firefly luciferase）是一种分子量约为61 kD的蛋白，在ATP、氧气和镁离子存在的条件下，可以催化底物 luciferin 氧化成 oxyluciferin。在 luciferin 氧化的过程中会发出波长为 560 nm 左右的生物荧光（bioluminescence），该生物荧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，转染细胞并对细胞进行适当药物等处理，最后对细胞裂解液测定其萤光素酶活性以及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。

Single Firefly Luciferase Reporter Gene Assay Kit 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（Firefly luciferase）活性的高灵敏度、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 min，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、发光信号稳定、测定样品的线性范围宽，性能优于国内主要同类产品。

组分和储存条件

Components	K2236-100 T	K2236-1000 T
Single Firefly Luciferase Assay Reagent	10 mL	100 mL

Store the reagent at -80°C away from light, stable for 1 year. Or store the reagent at -20°C away from light, stable for 3 months.

实验操作

- 1. 细胞处理：**首先使用适合化学发光检测的孔板接种细胞，如白色或黑色不透明培养板。对于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）。其他孔板接种体积可根据孔板大小进行调整。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。
- 2. 准备检测试剂：**融解冻存的 Single Firefly Luciferase Assay Reagent，按照96孔板每孔100 μ L（384孔板每孔25 μ L）的量，准备适量检测试剂并平衡至室温。
- 3. 萤火虫萤光素酶检测：**
 - 1) 取出细胞培养板在室温平衡 10 min（通常不宜超过 30 min）。

- 2) 每孔加入与培养基等体积的 Single Firefly Luciferase Assay Reagent。如对于 96 孔板，每孔 100 μL 培养基，则每孔加入 100 μL 的 Single Firefly Luciferase Assay Reagent。
- 3) 室温（约 25°C ）孵育5 min，使细胞充分裂解且发光信号趋于稳定。
- 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 s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°C 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°C ，推荐在3个月内使用。如果想使用 -20°C 可以稳定保存的试剂盒，可以选择本产品的冻干粉包装形式（货号：K2246）。
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°C 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次对于其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. 为避免细胞转染效率的差异而带来的误差，如果有必要，可以同时转染海肾萤光素酶（Renilla luciferase）的报告基因质粒作为内参，可以采用Dual Luciferase Assay System双萤光素酶报告基因检测试剂盒（K1136）进行检测。
7. 本产品仅限科研用途使用。

APEX BIO Technology

www.apexbt.com

7505 Fannin street, Suite 410, Houston, TX 77054.

Tel: +1-832-696-8203 | Fax: +1-832-641-3177 | Email: info@apexbt.com