

产品说明书

产品名称: Firefly Luciferase Assay Kit (萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒)

产品货号: BN16024

产品规格: 50T, 200T, 1000T

产品内容:

组分	50T	200 T	1000 T
A. 5× Firefly Luciferase Lysis Buffer	5 mL	20 mL	100 mL
B. Firefly Luciferase Assay Buffer	5 mL	20 mL	100 mL
C. D-Luciferin	1 mg	4 mg	20 mg

储存条件

-80°C保存。A、B组分在-20°C可以稳定保存3个月，在-80°C可以稳定保存6个月。C组分在-20°C避光条件下可以稳定保存6个月。萤火虫荧光素酶检测液(B+C)在-20°C可以保存一个月，在-80°C可以保存3个月并且该混合液不可反复冻融，建议进行小批量分装。

产品介绍

真核基因表达调控研究常用的方法是进行报告基因的检测，生物发光法又是报告基因检测最常用的有效手段。荧光素酶能催化底物荧光素的转化，并发射出光子。该产品为萤火虫荧光素酶报告基因在哺乳动物细胞中的表达提供快速、灵敏、稳定的检测方法。能够检测最低 10^{-20} mol的荧光素酶，在 10^{-14} 至 10^{-20} mol的酶浓度范围内呈很好的线性关系。

产品特点

1. 快速: 细胞裂解在10-15 min内完成。
2. 方便: 试剂易于配制，样品检测步骤简单。
3. 灵敏: 能够检测最低 10^{-20} mol的荧光素酶。
4. 酶的浓度线性范围可达8个数量。

实验步骤

1. 细胞裂解

1.1 将转入报告基因的细胞中的培养基移除，加PBS轻轻洗涤(贴壁细胞可直接进行此操作，悬浮细胞要离心收集细胞)。按如下方案加入1×Lysis Buffer(用无菌水按4:1稀释A组分)，然后将培养板放在微型震荡器上室温震荡15 min，充分裂解细胞。

细胞培养板	96孔板	48孔板	24孔板	12孔板	6孔板
细胞裂解液	30µL	60µL	120µL	240µL	480µL

注: 裂解产物可室温保存6 h, -70°C可长期存放(裂解产物不能多次反复冻融)。

1.2 将充分裂解后的裂解产物，10000-15000 rpm离心3-5 min。离心后将上清液移入新的EP管中进行后续检测。

2. 荧光素酶检测

2.1 按照仪器说明书将荧光测定仪打开，设定参数，测定时间为10 s，测定间隔为2 s。

2.2 将细胞裂解产物按照20~100 µL的体积加入测量管中(保持每次样品量一致)，另外加入100 µL萤火虫荧光素酶检测液，充分混匀后测定RLU(Relative light unit)。

注意: 萤火虫荧光素酶检测液不能反复冻融，若单次实验用量较少，建议按照单次使用量分装成小规格。

注意事项

1. 温度会对酶的活性产生影响，因此所有试剂应放置室温后再使用。
2. 如果单管荧光测定仪测定，每个样品与测定试剂混合后
3. 萤火虫荧光酶催化的生物发光的最强波长为 560 nm。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。