

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01061

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。萤光素酶能催化底物萤光素的转化并发射出光子。该产品为萤火虫萤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。海肾萤光素酶 (Renilla Luciferase) 是分子量约 36 kDa 的蛋白，在 O_2 存在下，催化其底物腔肠素 (Coelenterazine) 氧化成 Coelenteramide 并放出波长 480 nm 左右的萤光。萤光属于化学发光，可以用酶标仪的化学发光检测模块进行测定。检测原理见图 1。

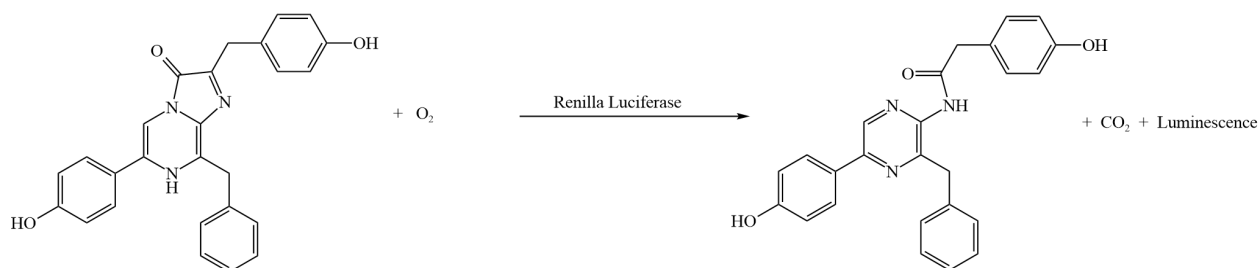


图 1 检测原理图

应用范围

真核基因表达调控研究

储运条件

-20 °C 避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

快速省时：细胞裂解在 10~15 min 内完成；

操作简单：试剂易于配制，样品检测步骤简单。

注意事项

- 1.使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 2.海肾萤光素酶催化的生物发光的最强波长为 480 nm。请用化学发光 (Luminescence) 模块进行检测。
- 3.如果单管萤光测定仪测定，每个样品与测定试剂混合后到测定前的时间应保持一致。
- 4.本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品和药品，不得存放于普通住宅内。
- 5.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

- 1.耗材
离心管
- 2.试剂
1 × PBS

- 3.仪器
- (1) 微型振荡器 (2) 摇床 (3) 多功能酶标仪

操作步骤

1.细胞裂解

(1) 将转入报告基因的细胞中的培养基移除，加入 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
裂解液体积	30 μL	60 μL	120 μL	250 μL	500 μL

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）。

(2) 将充分裂解后的裂解产物，10000~15000 rpm 离心 3~5 min，收上清。

2.工作液配制

- (1) 将所有组分恢复至室温。
- (2) 用组分 B 将组分 C 稀释成海肾萤光素酶工作液，稀释方法为将 1 μL C 组分加入到 49 μL B 组分中。

注：B 组分建议根据实验需求进行小批量分装。海肾检测工作液建议现配现用，避免反复冻融。

3.化学发光值检测

- (1) 按仪器说明书开启具有检测化学发光功能的仪器，如多功能酶标仪。设定参数，测定时间为 10 s，测定间隔为 2 s。
- (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）。1 × Lysis Buffer 为空白对照。
- (3) 加入 100 μL 海肾萤光素酶检测液，测定 RLU (Relative light unit) （建议酶标仪设置 Shaking 混匀功能）。

注：步骤 3 的化学发光为瞬时发光，请先打开酶标仪并设置好参数后，建议用排枪加入萤光素酶工作液，并立即进行检测。