

Luciferase Reporter Gene Assay Component

萤火虫萤光素酶检测组分

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Luciferase Reporter Gene Assay Component	11407ES60	100 T
	11407ES76	500 T
	11407ES80	1000 T

产品描述

萤火虫萤光素酶 (Firefly luciferase) 是一种分子量约为 61 kDa 的蛋白, 在 ATP、镁离子和氧气存在的条件下, 能够催化萤光素 (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, 该荧光可通过化学发光仪进行测定。检测原理如图所示:

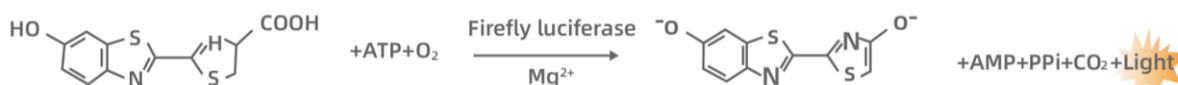


图 1: 萤火虫萤光素酶检测原理图

本试剂盒是一闪光型萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂, 用于检测裂解液裂解后释放萤光素酶的产物, 具有灵敏度高的特点, 可以高灵敏的检测萤光素酶在哺乳动物细胞中的表达。建议搭配双萤光素酶报告基因检测裂解组分 (Cat NO.11406ES) 一起使用, 效果更佳。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格		
		11407ES60 (100 T)	11407ES76 (500 T)	11407ES80 (1000 T)
11407-A	萤火虫萤光素酶检测组分	10 mL	5×10 mL	10×10 mL

运输与保存方式

干冰运输。-20°C 保存, 有效期 1 年。
 不能反复冻融, 建议 -20°C 或 -80°C 分装保存。

注意事项

- 1) 检测过程中需自备耗材和设备包括如下: PBS、100 μL 移液器或者排枪、不透光白色酶标板、Luminometer 发光计、多功能酶标仪或者其他能够检测生物发光的仪器;
- 2) 反应温度: 酶促反应对温度较为敏感, 加样检测前务必将所有试剂平衡至室温 (20-25°C) 再使用;
- 3) 检测仪器: 能检测化学发光的仪器都适用, 但由于不同仪器的设置和灵敏度不同, 测得的光信号值也会不同;
- 4) 检测设置: Luminescence, 350-700 nm, 建议检测时间设为 2-10 sec;
- 5) 检测板: 为防止孔间干扰, 推荐使用不透光白色酶标板。黑色酶标板也可用, 但因黑色会吸收光信号, 可能会降低信号;
- 6) 单管荧光测定仪测定, 每个样品与测定试剂混合后到测定前的时间应保持一致;
- 7) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 8) 本产品仅作科研用途!

实验步骤

- 1) 准备裂解产物。
- 2) 按照仪器说明书要求将荧光测定仪打开，设定参数，测定时间为 10 sec，测定间隔为 2 sec。
- 3) 取 20 μ L 裂解产物加入测量管中（保持每次样品的加样量一致），另外加入 100 μ L 萤火虫萤光素酶检测试剂，震板混匀 2-3 次，充分混匀后测定 RLU（Relative light unit）。
- 4) 分析数据。
①实验设计：根据不同实验目的，在每个培养板中都应设置对照组、实验组和空白对照组。为了保证实验准确性，理论上每个实验组（包括对照组）都应当减去空白对照组的萤火虫萤光素酶的发光测量值。

a.空白对照组：

背景 F：未转染细胞+萤火虫萤光素酶检测试剂。

注：空白对照组的样品量必须与实验样品量相同，包含与实验样品相同的培养基/血清组合，并加上完全相同的检测试剂。

b.实验组：转染细胞经实验化合物处理(即实验组 F)。

c.对照组：转染细胞不经处理，用以标准化结果(即对照组 F)。

②计算结果：

实验组=实验组 F-背景 F。

对照组=对照组 F-背景 F。

表达倍数=实验组/对照组。