

Firefly Luciferase Assay Kit

(萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒)

Firefly Luciferase Assay Kit



产品货号: F6024S, F6024M, F6024L

产品规格: 50T, 200T, 5×200T

储存条件: -20°C保存, 有效期见外包装

应用范围: 真核基因表达调控研究

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 的萤光素酶。
4. 酶的浓度线性范围可达 8 个数量级。

产品组分

组分 \ 规格	F6024S (50T)	F6024M (200T)	F6024L (5×200T)
A. 5×Firefly Luciferase Lysis Buffer	5 mL	20 mL	5×20 mL
B. Firefly Luciferase Assay Buffer	5 mL	20 mL	5×20 mL
C. D-Luciferin	5 mg	5 mg	5×5 mg

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。能够检测最低 10^{-20} mol 的萤光素酶, 在 10^{-14} 至 10^{-20} mol 的酶浓度范围内呈很好的线性关系。

实验步骤

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振荡器上室温振荡 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 μ L	60 μ L	120 μ L	250 μ L	500 μ L

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. 工作液配置

（1）将所有组分恢复至室温。

（2）用 B 组分充分稀释 C 组分（储液），配制成 0.2 mg/mL 的萤火虫萤光素酶工作液，涡旋震荡，确保充分混匀。

注：萤火虫萤光素酶工作液不能反复冻融，若单次实验用量较少，建议按单次使用量分装成小规格。

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 μ L 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 μ L 萤火虫萤光素酶检测液，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. 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。
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. 萤火虫萤光素酶催化的生物发光的最强波长为 560 nm。
5. 为防止孔间干扰，建议使用白色不透光孔板。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

