



Firefly Luciferase Reporter Gene Assay Kit

萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒

目录号：CW9311M

运输与保存：冰袋运输

-20±5°C避光储存，有效期12个月；萤火虫萤光素酶检测试剂(CW9311M-B和CW9311M-C的混合液)

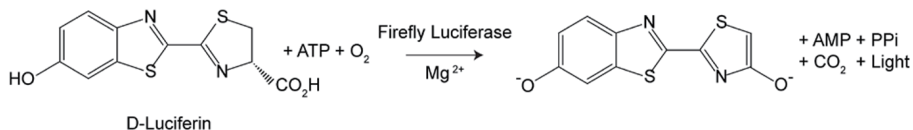
-20±5°C避光储存，有效期6个月。

产品内容

Cat. No.	Component	CW9311M
CW9311M-A	1X Passive Luciferase Lysis Buffer	10 mL
CW9311M-B	Firefly Luciferase Assay Buffer	10 mL
CW9311M-C	D-Luciferin	2 mg

产品简介

本产品是一款以萤光素(luciferin)为底物用于检测哺乳动物细胞中萤火虫萤光素酶(Firefly luciferase)活性的试剂盒。萤火虫萤光素酶是一种分子量约为61kD的蛋白酶，在ATP、镁离子和氧气的共同作用下催化luciferin氧化成oxyluciferin，从而产生波长为560nm左右生物萤光(bioluminescence)，这种萤光可以通过化学发光仪、酶标仪或液闪测定仪进行测定。本试剂盒的检测原理参考下图。



产品优势

本产品具有检测迅速、灵敏度高、检测范围广，无细胞内源活性干扰等优势。

使用方法

1. 细胞的准备:

使用适合进行化学发光检测的96孔板，每孔接种100 μL细胞(如使用384孔板，每孔接种25 μL细胞，具体用量视不同类型的384孔板而定)，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. 检测试剂的准备:

融解冻存的CW9311M-B，将CW9311M-B全部转移至CW9311M-C瓶中，旋紧瓶盖后颠倒混匀，使底物全部溶解，配制萤火虫萤光素酶检测试剂。按照96孔板每孔100 μL (384孔板每孔25 μL)的量，取适量萤火虫萤光素酶检测试剂，平衡至室温。

注：CW9311S-C为冻干粉可能会有少量粘附在瓶盖和瓶口，旋开瓶盖前可以拿起瓶子用瓶底并轻轻敲击桌面，使粉末尽量掉落至瓶底，然后再轻轻旋开瓶盖，并注意不要损失冻干粉。

3. 萤火虫萤光素酶检测操作:

注: 本步骤仅当细胞量比较大的情况下, 例如细胞培养在培养皿或6孔板中时, 可以考虑采用。

- 3.1 对于贴壁细胞: 吸尽细胞培养液后, 参考下表加入适量CW9311M-A; 对于悬浮细胞: 离心去上清后, 参考下表加入适量CW9311M-A。

Component	96-well plates	48-well plates	24-well plates	12-well plates	6-well plates
Lysis Buffer (CW9311M-A) $\mu\text{L}/\text{per well}$	20 μL	65 μL	100 μL	250 μL	500 μL

- 3.2 加入裂解液10-15 min充分裂解后, 10,000-15,000 g离心3-5分钟, 取上清用于测定。

注: 细胞裂解后可立即测定萤光素酶, 也可以先冻存, 待以后再测定。冻存样品需融解, 并达到室温后再进行测定。

- 3.3 每个样品测定时, 取样品 20-100 μL (如果样品量足够, 请加入 100 μL ; 如果样品量不足可适当减少用量, 但检测孔用量需保持一致)。CW9312M-A为空白对照。

- 3.4 室温(约25°C)孵育5分钟, 使发光信号趋于稳定。

注: 如果对于数据的稳定性的要求不太高, 可以忽略本步骤, 在混匀后立即进行化学发光

3.5 检测。

使用化学发光仪或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。可以将测定间隔设为2秒, 测定时间设为10秒, 或者根据仪器设备的要求并根据实验需要设置适当的间隔时间和测定时间。

注意事项

1. 为避免细胞培养板孔间干扰, 推荐使用白色或黑色的细胞培养板进行实验。
2. 萤火虫萤光素酶检测试剂建议现用现配, 或配制后分装避光保存, 避免反复冻融和长时间处于室温环境中。
3. 萤光素酶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。
4. 为取得最佳测定效果, 在用单管的化学发光仪测定时, 样品和测定试剂混合后到测定前的时间应尽量控制一致; 使用具有化学发光测定功能的多功能荧光酶标仪时, 宜先把样品全部加好, 然后统一加入萤火虫萤光素酶检测试剂。
5. 本公司所有产品仅限于专业人员用于生命科学研究, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅。
6. 本公司所有产品必须由合格专业技术人员操作同时佩戴口罩、手套、实验服并遵守生物实验室安全操作规程。

常见问题

1. 化学发光仪和荧光分光光度计有何不同？

荧光分光光度计检测的样品本身不能发光，样品需要由特定波长的激发光激发，然后才能产生荧光并被荧光分光光度计检测。化学发光仪检测的样品本身可以发光，不需要激发光进行激发。也就是说化学发光仪是检测化学发光(萤光)的仪器。有些型号的荧光分光光度计也具有化学发光仪的功能，即也可以检测化学发光。您所使用的荧光分光光度计能否用于化学发光的测定请仔细阅读该仪器的说明书。

2. 可以进行萤光素酶报告基因检测的仪器是否就可以用于本试剂盒的检测？

是。萤光素酶报告基因的检测原理和本试剂盒的原理相同，可以用相同的仪器测定。