

TransDetect[®] Double-Luciferase Reporter Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FR201

版本号: Version 2.1

保存: 试剂盒于-20°C保存。Cell Lysis Buffer -20°C保存一年, 配制好的荧光素酶反应试剂 (Luciferase Reaction Reagent 和 Luciferase Reaction Reagent II)需分装后避光保存, -70°C可保存一年, -20°C可保存一个月。

产品说明

萤火虫荧光素酶 (firefly luciferase)和海肾荧光素酶(*Renilla* luciferase)可分别催化荧光素 (luciferin)或腔肠素 (coelenterazine)氧化形成oxyluciferin或coelenteramide, 并在此过程中产生生物荧光。TransDetect[®] Double-Luciferase Reporter Assay Kit 首先以荧光素为底物检测萤火虫荧光素酶报告基因的活性, 之后在淬灭该荧光反应的同时, 以腔肠素为底物检测海肾荧光素酶报告基因的活性, 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特点。

试剂盒组成

Component	FR201-01-V2 (50 rxns)	FR201-02-V2 (200 rxns)
Luciferase Reaction Buffer	5 ml	20 ml
Luciferase Reaction Substrate (Lyophilized)	1 vial	4 vials
Luciferase Reaction Buffer II	5 ml	20 ml
Luciferase Reaction Substrate II (50×)	100 μl	400 μl
Cell Lysis Buffer (5×)	5 ml	20 ml

操作步骤

自备

Product Name	Catalog
PBS (1×)	TransGen, Cat. FG701-01
Nuclease-free Water	TransGen, Cat. GI101-01
小钢珠或研钵、研磨杵	

1、试剂配制

将Luciferase Reaction Buffer与Luciferase Reaction Buffer II从-20°C取出, 恢复至室温, 保证各组分完全溶解。(注意: Luciferase Reaction Buffer II 如出现沉淀属正常现象, 充分震荡溶解后即可使用。)

(1) Luciferase Reaction Reagent

用Luciferase Reaction Buffer充分溶解冻干状态的Luciferase Reaction Substrate (5 ml Buffer + 1 Vial Substrate), 分装后-20°C或-70°C避光保存, 避免反复冻融。

(2) Luciferase Reaction Reagent II

按1:49 的比例将Luciferase Reaction Substrate II 同Luciferase Reaction Buffer II 混合, 分装后-20°C或-70°C避光保存, 避免反复冻融。

(3) 1×Cell Lysis Buffer

按1:4的比例将5×Cell Lysis Buffer同Nuclease-free Water混合备用。

2、样品处理

a. 动物细胞

(1) 贴壁细胞: 去除细胞培养基, 用1×PBS小心润洗两次, 加入适量1×Cell Lysis Buffer, 室温充分裂解10分钟后, 刮取细胞于1.5 ml离心管中。



悬浮细胞：收集细胞，300×g离心5分钟，去除培养基。加入适量1×Cell Lysis Buffer，吹打混匀，室温充分裂解10分钟。

Cell Culture Plate	Lysis Buffer/Well
6-well	500 μ l
12-well	250 μ l
24-well	100 μ l
48-well	60 μ l
96-well	20 μ l

(2) 裂解完成后，2-8°C，12,000×g离心10分钟，取上清待检测。

b. 植物叶片（以烟草叶盘为例）

(1) 取3-4片直径为6-8 mm的烟草叶盘放入2 ml的EP管中，同时加入预冷的3-4个小钢珠，并加入适量的液氮，使用破碎机进行研磨破碎；或取3-4片直径为6-8 mm的烟草叶盘放入研钵中，加入适量液氮，用研磨杵研磨破碎。

(2) 破碎完成后，成粉末状，加入300 μ l 1×Cell Lysis Buffer（1个叶盘对应100 μ l裂解液）。吹打混匀，室温充分裂解5分钟。

(3) 2-8°C，12,000×g离心2分钟，取上清待检测。

c. 原生质体

(1) 收集原生质体，计数，300×g离心5分钟，去除上清。

(2) 按照10⁵原生质体/100 μ l 1×Cell Lysis Buffer加入裂解液，吹打混匀，室温充分裂解10分钟。

(3) 2-8°C，12,000×g离心2分钟，取上清待检测。

3、荧光检测

将100 μ l平衡至室温的Luciferase Reaction Reagent加入1.5 ml离心管或者不透明96孔板中，再小心吸取20 μ l裂解物至反应管或板中，水平震荡混匀，于化学发光仪(luminometer)中检测萤火虫荧光素酶报告基因的活性。之后吸取100 μ l平衡至室温的Luciferase Reaction Reagent II加入上述反应管或板中，水平震荡混匀，于化学发光仪中检测海肾荧光素酶报告基因的活性。

注意事项

- Luciferase Reaction Buffer II在溶解过程中可能有部分沉淀析出，使用前应充分震荡或将其置于37°C水浴锅中，保证其完全溶解后再使用。
- Luciferase Reaction Reagent和Luciferase Reaction Reagent II反应前需平衡至室温。
- 为保证实验数据准确可靠，建议测量大量样品时使用排枪添加Luciferase Reaction Reagent和Luciferase Reaction Reagent II，使用过程中务必留意排枪各孔吸取的液体是否一致。
- Luciferase Reaction Reagent和Luciferase Reaction Reagent II均易发生氧化反应，请合理安排实验，避免样品解冻后在室温下长时间放置。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V2.1-202303

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

