

双荧光素酶报告基因检测试剂盒

Dual Luciferase Reporter Gene Assay Kit

I. 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、辅酶 A、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。海肾萤光素酶 (Renilla luciferase) 是一种分子量约为 36 kDa 的蛋白, 在氧气存在的条件下, 可以催化腔肠 (coelenterazine) 氧化成 coelenteramide, 在氧化的过程中会发出波长为 480 nm 左右的生物荧光。两种生物荧光都可通过化学发光仪进行测定。Renilla Luciferase 作为内参, 来消除细胞数量、转染效率等的差异。Dual Luciferase Reporter Gene Assay Kit 首先以萤光素为底物来检测萤火虫萤光素酶报告基因的活性, 之后在淬灭该萤光反应的同时, 以腔肠素为底物检测海肾萤光素酶报告基因的活性。该试剂盒具有灵敏度高的特点。

II. 产品组分

组分	产品规格 (50T)
萤火虫萤光素酶检测试剂 (Reagent A)	5 ml
海肾萤光素酶检测试剂 (Reagent B)	5 ml

III. 运输和保存方式

1. 干冰运输。-20°C 保存, 有期限 1 年。
2. 萤火虫萤光素酶反应工作液和海肾萤光素酶反应工作液不能反复冻融, 建议 -20°C 或 -80°C 分装保存。

IV. 实验步骤

1. 细胞样品前处理

- 1) 细胞转染 (转染步骤参照相关的说明书)
- 2) 加入细胞裂解液, 充分裂解细胞
 - ① 对于贴壁细胞, 吸去细胞培养液, 按照比例加入细胞裂解液, 轻轻旋转培养皿或者培养板使裂解液完全覆盖细胞;
 - ② 对于悬浮细胞, 离心弃去上清, 按照比例加入裂解液。

细胞培养板	6 孔板	12 孔板	24 孔板	48 孔板	96 孔板
每孔裂解液加入量	500µL	300µL	200µL	150µL	100µL

- 3) 孵育 5min, 充分裂解细胞, 将裂解液吸入 1.5ml 离心管。
- 4) 13000rpm 离心 5min, 取上清备用。

2. 荧光检测

- 1) 打开荧光检测仪, 测定参数, 测定时间为 10sec, 测定间隔 2sec。
- 2) 取 20µL 裂解上清液加入不透光白色酶标板中 (96 孔), 接着加入 100µL 萤火虫萤光素酶检测试剂 (Reagent A), 充分混匀后测定 RLU (Relative light unit)。
- 3) 取 100µL 裂解上清液加入不透光白色酶标板中 (96 孔), 测定海肾萤光素酶活力 (Reagent B) (检测光波长 480 nm)
- 4) 数据分析: 样品荧光虫荧光值 RLU/对应样品海肾萤光素值

V. 应用本试剂发表的文章

1. Xia CH, Qin XF, Zhou LL et al., Reproductive regulation of PrRPs in teleost: The link between feeding and reproduction. *Frontiers in Endocrinology*, 2021, 12: 762826.
2. Xu SH, Zhou LL, Guo SM, et al., Different pituitary actions of NK3Ra and NK3Rb in grass carp. *General and comparative endocrinology*, 2021, 313, 113829.
3. Hu GF*, He ML, Ko KW, Wong AOL*. TAC1 gene products regulate pituitary hormone secretion and gene expression in prepubertal grass carp pituitary cells. *Endocrinology* (2017) 158(6): 1776-1797.

明星产品:

FBS500-H	HYCEZMBIO 特级胎牛血清
FBS500-A	HYCEZMBIO 澳洲胎牛血清
20210623	HYCEZMBIO 无外泌体胎牛血清
FBS100-D	HYCEZMBIO 无脂蛋白胎牛血清
HYZY105	支原体预防试剂
HYZY01	支原体去除试剂
HYCCK8	Cell Counting Kit (CCK8 试剂盒)
HYC2019	Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒
HY22208	线粒体膜电位检测试剂盒 (JC-1)
040-100T	活性氧检测试剂盒
HY12505	D-虫荧光素钾盐
HY22070	DiR 小动物活体成像荧光试剂
HY22031	DiD 细胞膜染料
FBK22022	CFDA SE (活细胞染色)
PKH67	PKH67 常规细胞膜标记试剂盒
PKH26	PKH26 红色荧光细胞链接试剂盒
HYHGF001	双荧光素酶基因报告试剂盒
RHYC12	组织/细胞 RNA 提取试剂盒 (gDNA 清除柱)