

实验步骤

1. 配制试剂

▲ Lysis Buffer:

Lysis Buffer (5X) 用水稀释5倍，配制成工作液；

▲ Luciferase Reaction Reagent:

用Luciferase Reaction Buffer (10 ml) 溶解Luciferase Reaction Substrate干粉（短暂离心再开盖），混匀后分装、避光保存，避免反复冻融；

▲ Luciferase Reaction Reagent II:

用Luciferase Reaction Buffer II (10 ml) 稀释、混合Luciferase Reaction Substrate II（短暂离心再开盖），分装、避光保存，避免反复冻融。

2. 裂解细胞

▲ 细胞裂解时密度应小于95%，细胞生长过密，易导致裂解不充分；质粒瞬转、病毒感染细胞后，需培养一段时间（一般48小时）使荧光素酶充分表达；调节实验参数，以满足上述条件；

▲ 去除培养基，用PBS润洗一遍，注意不要将细胞吹起；加入适量的1X Lysis Buffer，推荐用量见下表；

Multiwell Plate	Lysis Buffer/Well
6-well	500 μ l
12-well	200 μ l
24-well	100 μ l
48-well	50 μ l
96-well	30 μ l

▲ 将细胞培养板置于摇床上，室温、轻晃孵育15分钟；

▲ 将裂解物转移到新的EP管中，4°C、12,000rpm离心1分钟，取上清备用。

3. 荧光检测

▲ 取20 μ l裂解物，加入100 μ l平衡至室温的Luciferase Reaction Reagent，混匀后于酶标仪中检测fLuc信号；

▲ 然后加入100 μ l平衡至室温的Luciferase Reaction Reagent II，混匀后于酶标仪中检测rLuc信号。



400-092-0065 021-51296258

邮箱: service@hanbio.net 官网: www.hanbio.net

上海市浦东新区蔡伦路150号1号楼

双荧光素酶检测试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

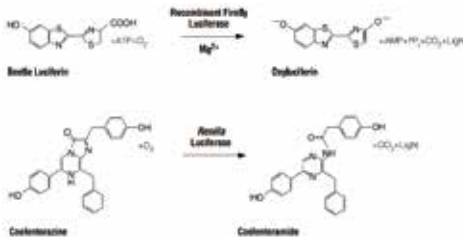
产品包装和保存条件

Dual-Luciferase Reporter Assay Kit (100 rxns)	
Luciferase Reaction Buffer	10 ml
Luciferase Reaction Substrate (Lyophilized)	1 vial
Luciferase Reaction Buffer II	10 ml
Luciferase Reaction Substrate II (125X)	80 μ l
Lysis Buffer (5X)	10 ml

试剂盒于-20℃保存。Lysis Buffer -20℃可保存一年。反应试剂 (Luciferase Reaction Reagent I和Luciferase Reaction Reagent II) 加入底物后, 分装、避光保存; -70℃可保存一年, -20℃可保存一个月; 避免反复冻融。试剂使用前需平衡至室温。

实验原理

萤火虫荧光素酶 (firefly luciferase, fluc) 和海肾荧光素酶 (renilla luciferase, rluc) 可分别催化荧光素 (luciferin) 和腔肠素 (coelenterazine) 产生生物荧光反应, 反应过程如下图所示。



在双荧光素酶反应中, 首先用Luciferase Reaction Reagent I检测fLuc信号; 随后, 直接加入Luciferase Reaction Reagent II, 将fLuc的信号淬灭, 同时产生rLuc信号。该方法具有操作简单、检测快捷、灵敏度高等优点。



400-092-0065 021-51296258

邮箱: service@hanbio.net 官网: www.hanbio.net

上海市浦东新区蔡伦路150号1号楼