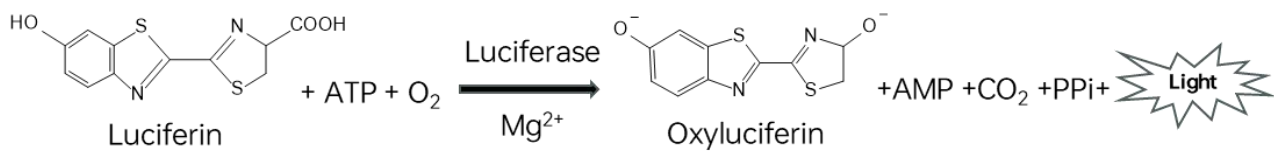


产品概述

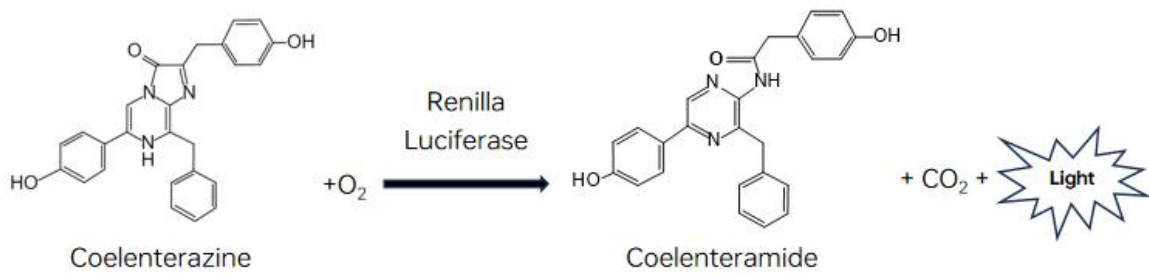
本试剂采用预混液形式，萤火虫萤光素酶检测试剂为即用型液体，其优点是无需配制即可以直接使用，但需要-80℃保存，如果在-20℃保存时间较长后检测效果会逐渐下降。

将萤火虫萤光素酶检测试剂直接加入细胞培养物中，使细胞裂解，并提供萤火虫萤光素酶底物，产生的光信号半衰期通常可达30min。后加入海肾萤光素酶检测试剂终止萤火虫萤光素酶反应的发光(终止效率>10,000倍)，并提供海肾萤光素酶底物，产生的光信号也可在30min内读取。此外，海肾萤光素酶作为校正转染效率的内参，消除了因孔间细胞数量、转染效率，以及细胞生长状态不同而造成的影响，使得检测结果的准确性更高。

本品内含有高纯度萤火虫萤光素酶底物和海肾萤光素酶底物（腔肠素h），可同时用于萤火虫萤光素酶报告基因和海肾萤光素酶内参基因的检测。其中萤火虫萤光素酶是从甲虫（Photinus pyralis）中分离得到，分子量为61kDa；在ATP、O₂、Mg²⁺存在的条件下，能够催化萤光素（luciferin）氧化成oxyluciferin，在氧化的过程中会发出波长为560 nm左右的生物萤光。



海肾萤光素酶（Renilla Luciferase）则是从海肾（Renilla reniformis）中分离，分子量为36kDa。仅需要O₂的存在下，即可催化腔肠素（coelenterazine）氧化成coelenteramide，从而发出480 nm左右的生物萤光。



产品/组分信息

组份编号	组分名称	C102-01	C102-02
C102-A	萤火虫萤光素酶检测试剂	1mL	10mL
C102-B	海肾萤光素酶检测底物(100X)	10μL	100μL
C102-C	海肾萤光素酶检测缓冲液	1mL	10mL

储存方式

A组分，收到货物后请分装后置于-80℃保存，B组份和C组份，-25 ~ -15℃保存。有效期一年。

使用说明

试剂准备

1.融化：将萤火虫萤光素酶检测试剂置于2~8℃或室温条件下融化，也可将本品放置于22℃水浴融化，但需要注意水温不可超过25℃。

2.海肾萤光素酶检测试剂准备：计算实验所需的检测试剂体积。将海肾萤光素酶检测底物按1:100稀释到相应体积的海肾萤光素酶检测缓冲液中，并轻柔颠倒混匀。例如：制备5mL的海肾萤光素酶检测试剂检测试剂时，可将50 μl 海肾萤光素酶检测底物加入到5 ml海肾萤光素酶检测缓冲液中。

▲使用前，确保萤火虫萤光素酶检测试剂以及海肾萤光素酶检测试剂已平衡至室温，若萤火虫萤光素酶检测试剂保存于-20℃或-70℃，融化后，需轻柔颠倒混匀3-5次后使用。

检测步骤

1.于培养箱中取出待测细胞培养板，室温放置30 min，以使培养板温度平衡至室温。

2.检测萤火虫萤光素酶活性：加入与待测细胞培养物等体积的萤火虫萤光素酶检测试剂，并混合均匀。例如：使用96孔培养板时，将 75 μl试剂添加到75 μL培养物中。使用384孔培养板时，将20 μL试剂添加到20 μL培养物中。

3.室温放置5 min，检测萤火虫萤光素酶发光。

4.检测海肾萤光素酶活性：加入与原始待测细胞培养物等体积的海肾萤光素酶检测试剂，并混合均匀。例如：使用96孔培养板时，将75 μl试剂添加到待测培养物中。使用384孔培养板时，将20 μl试剂添加到待测培养物中。

▲应在添加萤火虫萤光素酶检测试剂的30min内将海肾萤光素酶检测试剂试剂添加到平板孔中。

5.室温放置5 min，检测海肾萤光素酶发光。

▲应按照与测量萤火虫发光相同的板顺序来测量海肾发光。

注意事项

1.低温保存可降低萤火虫萤光素酶检测试剂的活性损失，切勿在高于25℃的温度下融化混合后的检测试剂，建议使用前可将其至于22℃ 水浴一段时间以平衡至室温。使用时，仅准备实验所需量的海肾萤光素酶检测试剂，以确保获得最佳结果，海肾萤光素酶检测试剂需现配现用。

2.发光的强度以及衰减速率取决于萤光素酶的反应速率。温度对酶反应速率有直接影响，两种萤光素酶活性的最适温度约为室温(20~25℃)，因此，检测时将试剂与待测培养物平衡至室温非常重要。

3.数据分析：在计算结果时，为了确保准确性，萤火虫和海肾萤光素酶的发光值都应减去相应的背景值。

背景Firefly: 未转染细胞+萤火虫萤光素酶检测试剂

背景Renilla: 未转染细胞+萤火虫萤光素酶检测试剂+海肾萤光素酶检测试剂

▲用于背景测量的样品量必须与实验样品量相同，并且包含与实验样品相同的培养基/血清组合。

根据不同实验目的，在每个培养板中都应设置空白对照，以及实验组和对照组：空白对照：未转染细胞，用以背景扣除(即背景Firefly和背景Renilla)

实验组：转染细胞经实验化合物处理(即实验组Firefly和实验组Renilla)

对照组：转染细胞不经处理，用以标准化结果(即对照组Firefly和对照组Renilla)

最终结果=
$$\frac{(\text{实验组Firefly}-\text{背景Firefly}) / (\text{实验组Renilla}-\text{背景Renilla})}{(\text{对照组Firefly}-\text{背景Firefly}) / (\text{对照组Renilla}-\text{背景Renilla})}$$

5.本产品仅供科学研究使用，不得用于临床医学诊断及其他非合理用途。