**稳定型萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒**

**Steady Firefly Luciferase Reporter Assay Kit**

|  |  |
| --- | --- |
| 货号 | 规格 |
| Luc-10 | 10毫升 |
| Luc-100 | 100毫升 |

# 产品原理：

萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒(Firefly Luciferase Reporter Gene Assay Kit)，是一种以荧光素(luciferin，也称萤光素)为底物， 检测荧光素酶(firefly luciferase， 也称萤光素酶)活性的试剂盒。萤火虫荧光素酶是一种分子量约为61 KD的蛋白，在ATP、镁离子和氧气存在的条件下， 可以催 化luciferin氧化成oxyluciferin。在luciferin氧化的过程中，会发出生物发光(bioluminescence)。生物发光可以通过化学发光仪(luminometer)或液闪测定仪进行测定。



通过荧光素和荧光素酶这一生物发光体系，可以非常灵敏、高效地检测基因的表达。通常把所研究基因的转录调控元件或 5’启动子区克隆在luciferase基因的上游，或把3’-UTR区克隆在luciferase基因的下游， 构建成报告基因(reporter gene)质粒，然后转染细胞，用适当方法处理细胞后，测定荧光素酶的活性。通过荧光素酶活性的高低，来判断处理方法对目的基因的转录调控的影响。

**保存条件：**

-20ºC避光保存6个月有效，-80ºC避光保存，一年有效。尽量避免反复冻融。

**使用方法：**

1. 室温下融解稳定型荧光素酶检测试剂，同时将培养好的细胞从培养箱中取出，在二者都达到室温且温度一致时，开始下一步实验；
2. 向细胞加入与培养基等体积的稳定型荧光素酶检测试剂，并在室温下平缓振摇孵育至少5分钟，以使细胞充分裂解，此过程可以用锡箔纸覆盖避光。不论细胞培养在何种器皿中，加入与培养基等体积的荧光素酶检测试剂即可；
3. 开启化学发光仪或具有检测化学发光功能的多功能酶标仪，设置适当参数；
4. 进行读数，可以直接在96孔板或384孔板中读数，也可以吸出100-200微升到发光管中进行读数。本产品信号值非常稳定，半衰期大于5小时，可达到高通量筛选的要求。

**稳定型萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒的优点：**

1. 灵敏度高，最低可检测10‐20摩尔荧光素酶分子，比Western Blot灵敏度高1000倍以上；
2. 检测范围广，在10-16 M(10 pg/L)至10-8 M(1 mg/L)范围内,光强度与荧光素酶浓度成正比；
3. 发光检测，检测方便，内源性低，哺乳动物无内源性表达，荧光素酶检测不受细胞内其他物质影响；
4. 试剂盒成分经过优化处理，可以使信号值保持长时间稳定，半衰期大于5小时，非常适合高通量筛选的要求。

**主要应用领域：**

1、启动子核心区域检测，增强子/抑制子等调控子核心元件检测；

2、启动子/增强子与转录因子的相互作用，启动子区可能的转录因子结合位点检测；

3、细胞信号转导途径研究；

4、病毒/细胞相互作用；

5、药物等化学诱导因素或射线等物理诱导因素对启动子活性的调节（抑制或增强）。

**注意事项：**

1. 常见培养基如RPMI1640、DMEM、F-12、MEM等，以及酚红、血清、PBS和其他缓冲液等，都不影响荧光素酶检测试剂的使用。稳定型荧光素酶检测试剂经过成分优化处理，可使信号值保持稳定，半衰期大于5小时，非常适合高通量筛选的要求。
2. 由于温度对酶反应有影响，所以样品和试剂均需达到室温后再进行测定。
3. 为保证荧光素酶检测试剂的稳定，可以采取适当分装后避光保存的方法，以避免反复冻融和长时间暴露于室温；经测试，反复冻融三次，对测定结果无明显影响。
4. 细胞如果在96孔或384孔板中直接读数，需要使用白色或黑色不透明的培养板，以免发生孔与孔之间的信号干扰。
5. 为避免由于质粒转细胞时效率的差异而带来的误差，可以同时转入海肾荧光素酶(Renilla luciferase)的报告基因质粒或β-半乳糖苷酶(β-galactosidase, β-gal)的报告基因质粒等作为内参。
6. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，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内。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**常见问题：**

1. **Luminometer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。Luminometer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luminometer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luminometer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，或咨询仪器供应商。
2. **可以进行ATP化学发光检测的仪器是否就可以用于本试剂盒的检测？** 是。ATP化学发光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。