

Renilla 萤光素酶报告基因检测试剂盒（标准型）

产品编号：MA0524 规格：100T / 1000T

产品内容

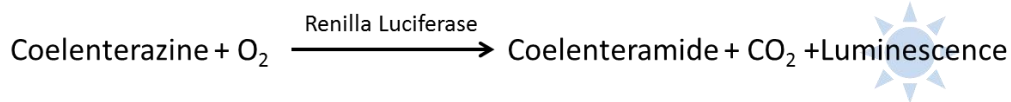
产品组成	MA0524-1	MA0524-2
	100T	1000T
Renilla 萤光素酶检测缓冲液	10mL	100mL
Renilla 萤光素酶检测底物（100×）	100μL	1mL
说明书	1 份	1 份

产品简介

本产品是一种高灵敏度、稳定、均质的海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒。本产品无需洗涤或收集细胞即可通过化学发光法直接测定细胞内海肾萤光素酶(sea pansy (Renilla reniformis) luciferase, 简称 Renilla luciferase)活性。在细胞培养板内加入与培养液等体积的检测试剂反应 5 分钟, 即可进行化学发光检测。本试剂盒使用灵活便捷、检测灵敏度高、测定样品的线性范围宽。另外, 本产品也可以用于裂解并收集保存的细胞样品的检测。

本产品既可单独使用, 直接裂解细胞检测细胞中海肾萤光素酶活性; 也可与萤火虫萤光素酶活性检测试剂盒共同使用进行一体化的双萤光素酶检测。本试剂盒为即配即用型试剂, 集细胞裂解、海肾萤光素酶检测于一体, 通过“加入-混合-检测”免去了先裂解后检测的实验步骤, 而且稳定的“辉光”更适合高通量样品的检测。

反应原理如下:



使用方法

（一）自备材料

PBS; 多道排枪; 白色或黑色不透光细胞培养板; 化学发光仪或酶标仪。

（二）检测前准备

- 海肾萤光素酶检测底物（100×），每次开盖前需进行短暂低速离心。
- 检测反应液配制：根据实际使用量，以 100:1 的比例将适量的 Renilla 萤光素酶检测缓冲液与 Renilla 萤光素酶检测底物（100×）混匀，室温避光备用。例如：如果需要使用 100mL 检测缓冲液，则



需要加入 1mL 的检测底物。

注：建议现配现用，剩余的检测反应液当次实验结束后，直接舍弃，不要留存。

（三）操作方法

➤ 细胞原位检测

（1）从细胞培养箱中取出细胞培养板，放置 5-15min，恢复至室温。

注：建议使用白色或黑色不透光的细胞培养板，减少孔间的信号干扰。

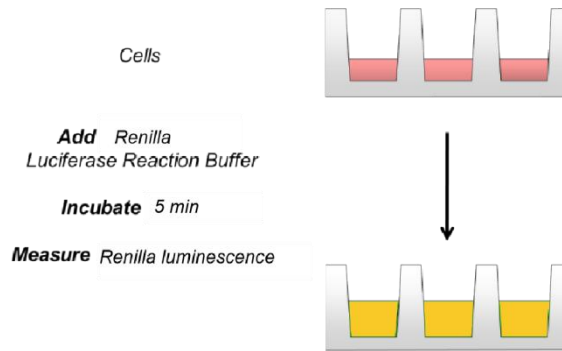
（2）Renilla Luciferase 反应检测

①使用多道排枪向每个细胞孔中加入平衡至室温的含有底物的海肾萤光素酶检测反应液，加样体积与初始细胞培养液体积相同并充分混匀。

Cell Culture Plate	6-well	12-well	24-well	48-well	96-well	384-well
含细胞的培养液	2mL	1mL	500μL	200μL	100μL	25μL
检测反应液	2mL	1mL	500μL	200μL	100μL	25μL

②孵育 5min 后于化学发光仪或多功能酶标仪中检测 Renilla Luciferase 报告基因活性。

注：为得到最佳检测结果，请在加入检测反应液后 1 小时内完成检测。



➤ 裂解并收集保存的细胞样品检测

（1）裂解细胞

①贴壁细胞：吸去细胞培养基，用 PBS 缓慢轻柔地洗涤一次，洗去残留的培养基，然后将液体全部吸弃。

悬浮细胞：500-1000g 转速离心去上清后，用 PBS 清洗细胞一次，再次离心收集细胞沉淀。

②按照下表推荐加入适量的 1×细胞裂解工作液（萤光素酶报告基因细胞裂解液（通用型）/MA0523），室温下静置或振动摇晃裂解 15min，吹打并吸取全部细胞裂解产物至 1.5mL 离心管中，12000g 离心 5-10min，取上清用于后续检测。

Cell Culture Plate	6-well	12-well	24-well	48-well	96-well
1×细胞裂解工作液	500μL	200μL	100μL	50μL	20μL

注：若萤光素酶的表达水平过低，可适当减少细胞裂解工作液用量以提高蛋白浓度，但需保证裂解工作液体积可以覆盖细胞孔板底面，否则会影响裂解效果。



(2) Renilla Luciferase 反应检测

①小心吸取 20 μ L 细胞裂解上清依次加入至检测管或酶标板中，再加入 100 μ L 平衡至室温的含有底物的海肾萤光素酶检测工作液。

②孵育 5min 后于化学发光仪或多功能酶标仪中检测 Renilla Luciferase 报告基因活性。

注：如果对于数据的稳定性的要求不太高，可以在混匀后立即进行化学发光检测。

保存条件

-20 $^{\circ}$ C 保存，自生产之日起 12 个月有效。

注意事项

1. 检测仪器选择：能够检测化学发光的仪器都适用本试剂盒的检测，但是针对相同的样品，不同检测器本底信号值和测量值均可能不同；且对于同一样本检测，不同仪器的数值不可横向比较。为防止孔间干扰，推荐使用不透明白色或黑色细胞培养板。
2. 由于发光信号会受到检测环境如培养基组分、温度等影响，所以应确保同组内不同样本检测条件一致。
3. 酶促反应对温度较为敏感，加样检测前务必将检测试剂以及细胞培养板平衡至室温。
4. 如需同时检测多个细胞培养板，请尽量确保每个细胞板加入检测溶液后孵育时间一致，再进行数据读取，以此获得最佳的检测结果。
5. Renilla 萤光素酶检测底物（100 \times ）配制在无水乙醇中。由于无水乙醇容易挥发，有时会在初次使用时发现体积明显小于包装规格的情况，此时用无水乙醇把体积补足至包装规格，并混匀后即可使用。
6. 海肾萤光素酶催化的生物发光的最强波长为 480 nm，请根据仪器要求设置相应的参数。

Y241001

