

## Bio-Nano&Firefly 双萤光素酶报告基因检测试剂盒

产品编号: PWL209

规格: 10mL / 100mL / 10mL×10 / 100mL×10

### 产品内容

产品组成	PWL209-1 10mL	PWL209-2 100mL	PWL209-3 10mL×10	PWL209-4 100mL×10
Dual-Firefly Luciferase Reaction Buffer	10mL	100mL	10mL×10	100mL×10
Dual-Firefly Luciferase Substrate	1 vial	1 vial	10 vial	10 vial
Stop&Bio-Nano Luciferase Reaction Buffer	10mL	100mL	10mL×10	100mL×10
Stop&Bio-Nano Luciferase Substrate (100x)	100μL	1mL	100μL×10	1mL×10
说明书	1 份	1 份	1 份	1 份

### 产品简介

“双报告基因”检测系统通常被用来提高实验精确度，即在一个系统中同时表达和测量两个独立的报告基因。一般来说，实验组报告基因与具体实验条件的影响是相关的，而共同转染的内对照组报告基因则是用来充当校正参数，作为内参提供反应基线。将实验组的结果与内对照组的结果进行约化处理，可降低由细胞存活率或转染效率的差异而导致的结果波动，同时还可消除仪器测定引起的实验误差。因此，双报告基因检测可以通过减少外部影响来获得更可靠的实验数据。

美仑 Bio-Nano&Firefly 双萤光素酶报告基因检测系统是一种辉光型定量检测试剂盒，具有高灵敏度和发光信号稳定的特点，符合高通量检测的需求。该检测试剂盒在同一个样品中先以一种新型萤光素为底物来检测萤火虫萤光素酶（Firefly luciferase），后以新型底物来检测 Bio-Nano 萤光素酶，同时淬灭 Firefly luciferase 的萤光信号，实现双萤光素酶报告基因检测。

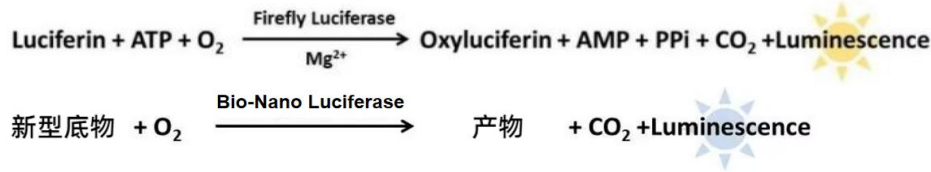
相比于美仑辉光型 Firefly&Renilla-Light 双萤光素酶报告基因检测试剂盒（MA0520），本品 Bio-Nano&Firefly 双萤光素酶报告基因检测试剂盒（PWL209）具有以下优点：

- ✓ 采用了全新的萤光素酶检测新型底物和 Bio-Nano 萤光素酶，具有更高的发光强度，该辉光型试剂盒近乎达到了闪光型双萤光素酶报告基因检测试剂盒（MA0518）的灵敏度；
- ✓ 具有更好的发光信号的稳定性，近乎 2 小时的信号半衰期为实验设计提供了更大的灵活性；高通量检测无需依赖自动进样器，并且无需弃培养液、离心等步骤，简化了实验流程，满足绝大多数高通量实验需求；
- ✓ 本试剂盒组分做了大量优化，与传统闪光型产品相比，无明显刺激性气味；
- ✓ 可用于多种常用细胞培养液：RPMI 1640、DMEM、α-MEM、F-12、DMEM/F-12 等。

本试剂盒中 Bio-Nano 萤光素酶使用一种新型底物，可产生高强度、辉光型发光，底物自主开发，国内使用无专利风险。本品遵守严格的生产及质控程序，更加符合生物药研发企业使用。



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；化学发光仪或带发光检测功能的酶标仪。

### （二）检测前准备

1. **Firefly Luciferase 检测工作液**的配制：首次使用时将 Dual-Firefly Luciferase Reaction Buffer 一次性全部倒入 Dual-Firefly Luciferase Substrate 瓶中，充分混匀直至所有底物溶解。按使用需求进行分装，建议-70℃长期保存或者短期存放于-20℃不超过一个月，并尽快使用。

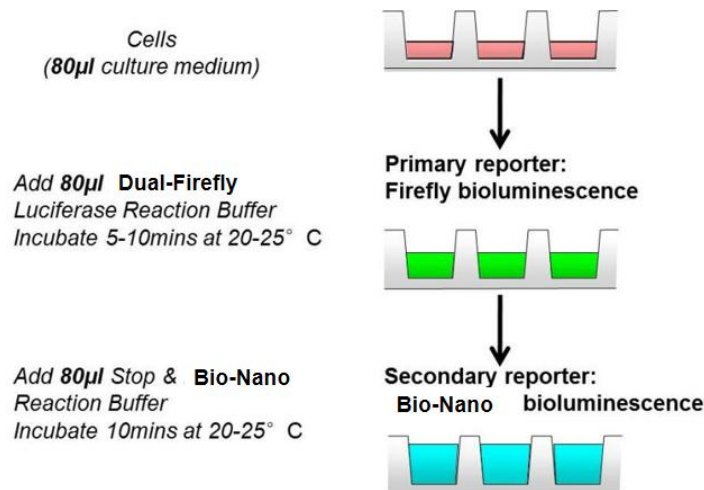
2. 取出 Stop&Bio-Nano Luciferase Substrate (100x)，每次开盖前需进行短暂低速离心。

3. **Bio-Nano Luciferase 检测工作液**的配制：根据实际使用量，以 100:1 的比例将适量的 Stop&Bio-Nano Luciferase Reaction Buffer 与 Stop&Bio-Nano Luciferase Substrate (100x)混匀，室温避光备用。例如：如果需要 100ml 检测工作液，则需要加入 1ml 的检测底物。

注：① 建议检测工作液每孔的加样体积与细胞培养液体积相同。

② 建议现用现配，剩余的检测工作液在当次实验结束后，直接舍弃，不要留存。

### （三）检测方法





1. 从细胞培养箱中取出已接种好待检细胞的细胞培养板，放置 5-15min，恢复至室温。

注：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. Firefly 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 **Firefly Luciferase 检测工作液**，加样体积与细胞培养液体积相同并混匀。由于需要分别加入两种检测溶液，为防止孔板液体溢出，96 孔板建议加入 80 $\mu$ l 培养液，相应加入 80 $\mu$ l 检测溶液。

② 室温下孵育 5-10min。为了使细胞裂解充分，也可将细胞培养板放在振荡混匀仪或附带振板功能的仪器上，室温条件下，采用中高速振板 5-10min。

注：孵育时间，可根据细胞量进行适当调整，确保细胞充分裂解，得到稳定的发光检测结果。

③ 孵育后于化学发光仪或带发光检测功能的酶标仪中检测 **Firefly Luciferase** 活性。

注：发光信号会逐渐衰减，为得到最佳检测结果，请在加入检测工作液后 2 小时内完成检测。

## 3. Bio-Nano 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 **Bio-Nano Luciferase 检测工作液**，加样体积与初始细胞培养液体积相同并充分混匀。例如，96 孔板建议加入 80 $\mu$ l 培养液，相应加入 80 $\mu$ l 检测溶液。

② 将细胞培养板放在振荡混匀仪或附带振板功能的仪器上，室温条件下，采用中高速振板至少 3min。使溶液充分混匀，得到最佳淬灭效果。

③ 孵育至少 10min 后（包括前面振板 3min）于化学发光仪或带发光检测功能的酶标仪中检测 **Bio-Nano Luciferase** 活性。

注：发光信号会逐渐衰减，为得到最佳检测结果，请在加入检测工作液后 2 小时内完成检测。

## 保存条件

未开封试剂盒-20 $^{\circ}$ C 保存，自生产之日起一年有效。

溶解分装后的 **Dual-Firefly Luciferase Substrate** 于-70 $^{\circ}$ C 避光保存一年，或-20 $^{\circ}$ C 短期保存不超过一个月。

## 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工作液以及细胞培养板平衡至室温。
4. 为取得最佳检测结果，加入 Bio-Nano Luciferase 检测工作液后，需要孵育至少 10min 才可以检测 Bio-Nano Luciferase 报告基因活性，其中包括振动混匀至少 3min。
5. Bio-Nano 萤光素酶具有超强信号稳定性，半衰期可达 2 小时。但是当酶表达量过高时，信号半衰期会缩短，建议优化实验设计方案（如减少质粒转染量），避免萤光素酶表达量过高。
6. Stop&Bio-Nano Luciferase Substrate (100x) 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。