



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-168-3301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
RG016	海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒	100次

产品简介:

- 碧云天生产的海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒(Renilla Luciferase Reporter Gene Assay Kit), 是一种以肠腔素(Coelenterazine)为底物来检测海肾萤光素酶(Renilla reniformis luciferase, 简称renilla luciferase)活性的试剂盒。
- 海肾萤光素酶是一种分子量约为36kD的蛋白, 在氧气存在的条件下, 可以催化Coelenterazine氧化成Coelenteramide。在Coelenterazine氧化的过程中, 会发出生物荧光(bioluminescence)。生物荧光可以通过化学发光仪(luminometer)或液闪测定仪进行测定。本试剂盒的检测原理参考图1。

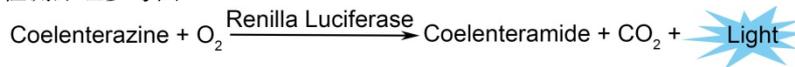


图1. 海肾萤光素酶的检测原理图。

- 通过萤光素和萤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。通常把感兴趣基因的转录调控元件或5'启动子区克隆在luciferase的上游, 或把3'-UTR区克隆在luciferase的下游等, 构建成报告基因(reporter gene)质粒。然后转染细胞, 用适当药物等处理细胞后裂解细胞, 测定萤光素酶活性。通过萤光素酶活性的高低来判断药物处理等对目的基因的转录调控作用。海肾萤光素酶一方面常用作萤火虫萤光素酶报告基因检测的内参, 以消除由于质粒的转染效率不同而带来的误差; 另一方面海肾萤光素酶也可以和萤火虫萤光素酶一样被用于常规的报告基因检测。
- 海肾萤光素酶催化Coelenterazine发光的最强发光波长为465nm (centered around 465nm)。
- 本试剂盒可以测定100个样品。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
RG016-1	海肾萤光素酶报告基因细胞裂解液	60ml
RG016-2	海肾萤光素酶检测缓冲液	10ml
RG016-3	海肾萤光素酶检测底物(100X)	100μl
—	说明书	1份

保存条件:

海肾萤光素酶报告基因细胞裂解液和海肾萤光素酶检测缓冲液, 4°C保存3个月有效, -20°C保存一年有效; 海肾萤光素酶检测底物(100X), -20°C避光保存6个月有效, -80°C避光保存一年有效。

注意事项:

- 为取得最佳测定效果, 在用单管的化学发光仪测定时, 样品和测定试剂混合后到测定前的时间应尽量控制在相同时间内, 例如30秒内; 使用具有化学发光测定功能的多功能荧光酶标仪时, 宜先把样品全部加好, 然后统一加入海肾萤光素酶检测工作液。
- 由于温度对酶反应有影响, 所以测定时样品和试剂均需达到室温后再进行测定。
- 样品和测定试剂混合后, 必须等待1-2秒, 再进行测定。测定时间通常为10秒, 根据情况也可以测定更长或更短时间, 但是同一批样品宜使用相同的测定时间。
- 海肾萤光素酶检测底物(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100μl的情况, 此时用无水乙醇把体积补足至100μl, 并混匀后即可使用。
- 海肾萤光素酶检测工作液宜配制后立即使用。如不能立即使用, -20°C可以保存一周。随着保存时间的延长检测效果会不断下降, 因此不可配制成工作液后长期保存。
- 为避免由于质粒转染细胞时效率的差异而带来的误差, 可以同时转入适当的萤火虫萤光素酶(firefly luciferase)的报告基因质粒作为内参, 采用碧云天的双萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG016/RG017)进行检测; 也可以同时转入β-半乳糖苷酶(β-galactosidase, β-gal)报告基因质粒作为内参, 然后采用碧云天生产的β-半乳糖苷酶报告基因检测试剂盒(RG0036)进行检测。采用本试剂盒中的报告基因细胞裂解液裂解获得的样品可以直接用于β-半乳糖苷酶报告基因检测试剂盒(RG0036)的检测。
- 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。

使用说明:

- 裂解细胞：将报告基因细胞裂解液充分混匀后，按如下方式加入报告基因细胞裂解液，充分裂解细胞。
 - 对于贴壁细胞：吸尽细胞培养液后，参考下表加入适量的报告基因细胞裂解液；对于悬浮细胞：离心去上清后，参考下表加入适量报告基因细胞裂解液。

器皿类型	96孔板	48孔板	24孔板	12孔板	6孔板
报告基因细胞裂解液 (微升/孔)	100	150	200	300	500

注：如果萤光素酶的表达水平比较低，可以尝试使用更少的裂解液，例如6孔板的每孔用量可以最小为100微升。

- 充分裂解后，10,000-15,000g离心3-5分钟，取上清用于测定。
注：细胞裂解后可以立即测定萤光素酶，也可以先冻存，待以后再测定。冻存样品需融解，并达到室温后再进行测定。
- 融解海肾萤光素酶检测缓冲液，并达到室温。海肾萤光素酶检测底物(100X)置于冰浴或冰盒上备用。
 - 按照检测每个样品需100微升检测工作液的量，配置适量海肾萤光素酶检测工作液。按照1:100的比例混合适量海肾萤光素酶检测底物(100X)和海肾萤光素酶检测缓冲液，即配制成海肾萤光素酶检测工作液。例如，1毫升海肾萤光素酶检测缓冲液中加入10微升海肾萤光素酶检测底物(100X)充分混匀后即可配制成约1毫升海肾萤光素酶检测工作液。
 - 按仪器操作说明书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，将测定间隔设为2秒，测定时间设为10秒。
 - 每个样品测定时，取样品20-100微升(如果样品量足够，请加入100微升；如果样品量不足可以适当减少用量，但同批样品的使用量宜保持一致)。
 - 加入100微升海肾萤光素酶检测工作液，用枪打匀或用其它适当方式混匀后测定RLU(relative light unit)。以海肾萤光素酶报告基因细胞裂解液为空白对照。本试剂盒的检测效果以及与同类竞争产品的检测效果比较可以参考图2。

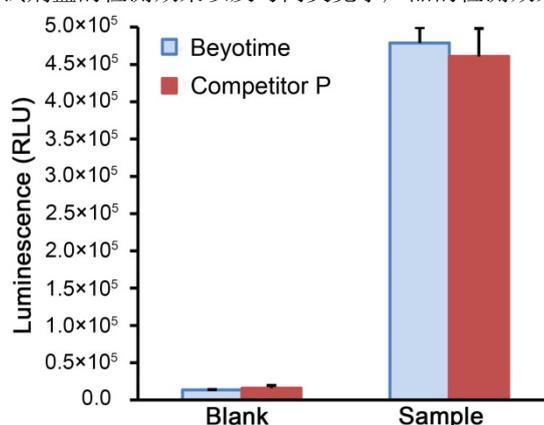


图2. 本产品和P公司竞争产品(Competitor P)对相同样品的检测效果。实际读数会因细胞数量、转染效果、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

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。

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。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
RG005	萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	100次
RG006	萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	1000次
RG016	海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒	100次
RG017	海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒	1000次
RG027	双萤光素酶报告基因检测试剂盒	100次
RG028	双萤光素酶报告基因检测试剂盒	1000次
RG0036	β-半乳糖苷酶报告基因检测试剂盒	200次