

## 萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒 (增强型)

产品编号	试剂名称	规格	保存条件
Omt-07	5 × 细胞裂解液 (5 × Cell Lysis Buffer)	20 ml	-20 °C 2年
	萤火虫荧光素酶检测试剂 (Firefly Luciferase Detection Reagent)	10 ml	-80 °C 2年
	说明书	1份	

### 一、运输与存储条件。

本产品必须干冰运输，并依据各组份保存条件分开保存，有效期2年。

### 二、注意事项（请使用试剂盒前阅读此注意事项）。

1. 由于萤火虫荧光素酶活性检测受温度影响，所以待测样品（细胞裂解产物）和荧光素酶活性检测试剂需要平衡到室温后再进行检测。
2. 萤火虫荧光素酶检测试剂不可反复冻融，可分装成100 μl/管，置于-80 °C长期保存。
3. 用ddH<sub>2</sub>O将5 × 细胞裂解液稀释成1 × 细胞裂解液，再裂解细胞。1 × 细胞裂解液可在4 °C存放1周，长期保存在-20 °C。
4. 为取得最佳测定效果，用单管的化学发光仪测定样品活性时，样品加入底物时的间隔时间和混合次数尽量一致，减少操作误差；使用多功能化学发光酶标仪时，宜先把样品全部加好，再统一加入萤火虫荧光素酶检测试剂。
5. 为了您的完全，请穿实验服、佩戴乳胶手套和安全眼镜。

### 三、产品简介。

本产品是增强型的萤火虫荧光素报告基因检测试剂盒，灵敏度是普通型萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒的3-10倍，可以有效检测到荧光素酶活性的微弱变化，适合细胞中荧光素酶表达量较少或活性较低的样品检测。

#### 四、特点与优势。

1. 本产品灵敏度高于市售同类试剂，可以有效的检测萤火虫荧光素酶的活性变化。
2. 本试剂盒操作简单，能够快速完成萤火虫荧光素酶活性检测。

#### 五、使用说明。

1. 以 6 孔细胞培养板培养的贴壁细胞为处理对象，实验步骤如下：
2. 细胞转染。细胞转染实验请参考本公司转染试剂（**Omifection, Cat: Omc-01**）说明书中的实验步骤，将编码萤火虫荧光素酶基因的质粒转入 6 孔板的细胞中，2  $\mu\text{g}$ /孔。
3. 裂解液配制。用 ddH<sub>2</sub>O 稀释 5 $\times$  细胞裂解液，配成 1 $\times$  细胞裂解液，可在 4 $^{\circ}\text{C}$  存放一周。
4. 细胞裂解。细胞转染 48 h，弃培养液，预冷的 PBS 洗涤细胞 1 次，加入 0.5 ml 的 1 $\times$  细胞裂解液，置于 4 $^{\circ}\text{C}$  冰箱中的摇床上，摇晃 15-30 min，裂解细胞。裂解液转入 1.5 ml EP 管中，12,000 $\times g$ ，4 $^{\circ}\text{C}$  离心 5 min，上清转移至新的 EP 管中，作为待测样品。
5. 活性检测。打开检测仪器，设置测定参数，一般延迟时间（整合时间）为 2 sec，测定时间为 10-20 sec。吸取 100  $\mu\text{l}$  萤火虫荧光素酶检测试剂，加入 EP 管（或 96 孔板）中，再加入 5-20  $\mu\text{l}$  待测样品（细胞裂解产物），混匀，仪器检测。

表1. 细胞裂解液体积表

96孔板	24孔板	12孔板	6孔板
100 $\mu\text{L}$ /孔	200 $\mu\text{L}$ /孔	250 $\mu\text{L}$ /孔	500 $\mu\text{L}$ /孔

## 六、效果鉴定。

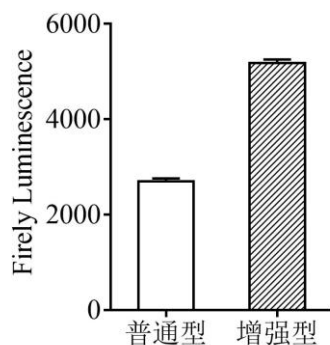


图 1. 萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒（增强型）效果鉴定。

## 七、常见问题与分析。

问题	可能原因	解决方案
酶活性值偏低	细胞转染效率低, luciferase 表达水平偏低。	增强细胞转染效率, 或更换成转染效率较高的的细胞株, 如 293T 细胞。
	细胞裂解产物使用量偏少。	增加检测体系中的细胞裂解产物。
	细胞裂解不充分。	请用配制的 1× 细胞裂解液裂解细胞 30 min, 裂解过程中不断震荡。
	荧光素酶活性检测试剂失效。	请按规定使用和保存试剂盒。
	荧光素酶活性检测试剂反复冻融。	请收货后及时分装荧光素酶活性检测试剂, 避免反复冻融。
重复测量的荧光素酶活性值偏差大	样品和检测试剂未平衡到室温。	提前取出样品和分装的检测试剂, 避光放置几分钟, 平衡到室温后再开始检测。
	样品加样量不准。	使用精确度较高的移液器, 保证加样量, 混合次数及间隔时间一致。
	检测试剂不是同一批次分装的检测试剂。	反复冻融降低检测试剂的灵敏度, 因此, 检测同一样品时, 使用同一批次分装, 且没有反复冻融的荧光素酶活性检测试剂。
荧光素酶活性值偏高	细胞转染效率高, luciferase 表达量高。	减少细胞裂解产物用量, 或用 1×细胞裂解液稀释细胞裂解产物后再测定。
	细胞裂解产物用量偏大。	减少测定体系中的细胞裂解产物用量。