

TransDetect® Dual-Luc Pro Luciferase Reporter Assay Kit

TransDetect® 辉光型双荧光素酶报告基因检测试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FR203

保存: 未开封试剂盒于-18°C及以下保存一年。溶解分装后的Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Reagent于-70°C及以下可保存一年, 或-18°C及以下短期保存不超过1个月, 尽量避免反复冻融。Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Reagent II需现用现配。

产品说明

TransDetect® Dual-Luc Pro Luciferase Reporter Assay Kit是一款高灵敏度、无刺激性气味、荧光信号非常稳定、均质的双荧光报告基因检测试剂盒。本试剂盒中含有高纯度的萤火虫荧光素和腔肠素, 在同一个样品中先以萤火虫荧光素为底物检测萤火虫荧光素酶, 然后淬灭其信号, 同时以腔肠素为底物检测海肾荧光素酶的发光信号, 实现双荧光素酶报告基因检测。相比于闪光型TransDetect® Double-Luciferase Reporter Assay Kit (FR201), 本产品检测无需去除培养液, 只需要加样-读数, 操作更简便, 且发光为辉光型, 信号更稳定。

特点

- 发光信号稳定: 半衰期为2 h左右 (20-25°C), 适用于高通量检测。
- 检测结果准确: 以海肾荧光素酶作为内参基因, 可校正孔间细胞数量、转染效率的误差。
- 操作便捷: 无需弃去培养液, 可直接加入检测试剂。
- 无刺激性气味。

产品组成

| Component | FR203-01 (100 rxns) | FR203-02 (1000 rxns) |
|--|---------------------|----------------------|
| Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Buffer | 10 ml | 100 ml |
| Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Substrate (Lyophilized) | 1 vial | 1 vial |
| Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Buffer II | 10 ml | 100 ml |
| Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Substrate II (100×) | 100 µl | 1 ml |

自备

单/多道移液器、不透光细胞培养白板/黑板、配置了化学发光检测模块的酶标仪

操作步骤

1. 试剂配制

将试剂Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Buffer与Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Buffer II从-18°C及以下取出, 恢复至室温, 使其完全溶解。

(1) Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Reagent

将一瓶Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Buffer倒入冻干形式的Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Substrate中, 轻柔颠倒混匀至底物完全溶解。按实验需求进行分装, 置于-70°C及以下长期或-18°C及以下短期避光保存, 避免反复冻融。每次使用前均需平衡至室温。

(2) Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Reagent II

按实验所需, 按1:100的比例将Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Substrate II (100×)同平衡至室温的Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Buffer II混合均匀, 室温避光, 现配现用。例如: 制备1 ml Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Reagent II时, 可将10 µl Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Substrate II (100×)加入到1 ml Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Buffer II中。



2. 发光检测

- (1) 将细胞培养板从培养箱中取出，静置10-20 min平衡至室温。
- (2) 萤火虫荧光素酶活性检测：向细胞孔板中加入与培养液等体积的Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Reagent。例如：96孔板每孔80 μl培养液加入80 μl试剂，384孔板每孔20 μl培养液加入20 μl试剂。
- (3) 放置于室温水平摇床上轻摇10 min后，在酶标仪上检测萤火虫荧光素酶（F）发光信号。
- (4) 海肾荧光素酶活性检测：向细胞孔板中加入与培养液等体积的Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Reagent II。例如：96孔板每孔80 μl培养液加入80 μl试剂，384孔板每孔20 μl培养液加入20 μl试剂。
- (5) 放置于室温水平摇床上轻摇10 min后，在酶标仪上检测海肾荧光素酶（R）发光信号。

3. 数据分析

- (1) 根据实验需求，需要在每个细胞培养板中均设置背景组、实验组与对照组。背景组为未转染细胞，实验组为根据实验需求经处理的转染细胞，对照组为未处理的转染细胞。所有组别检测步骤均一致。
- (2) 计算每孔的待测报告基因与内参报告基因发光信号比值。
实验组比值=（实验组F-背景组F）/（实验组R-背景组R）。
对照组比值=（对照组F-背景组F）/（对照组R-背景组R）。
- (3) 使用对照组的比值将各实验组的比值进行归一化。
实验组待测报告基因表达倍数=实验组比值/对照组比值。

注意事项

- Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Buffer II可在室温长期保存，可避免使用前再进行长时间温度平衡
- 配好的Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Reagent于--18°C及以下可短期保存一个月，尽量避免反复冻融，如需长期保存请于-70°C及以下放置。
- Dual-Luc Pro Luciferase Reaction Reagent II需现配现用。
- 温度对荧光素酶-荧光素反应速率具有较大的影响。所以在检测前需要将待检测细胞培养体系与所用试剂完全平衡至相同的室温温度，以保证检测结果的一致性。对于高通量检测需求，多孔板的培养体系，在操作时需要相应延长温度平衡时间，堆叠放置的培养孔板需要更长时间的平衡，未充分平衡的孔间检测的一致性会受到影响，导致检测结果不可信。
- 实验中混匀步骤均需轻柔，避免产生过多气泡，影响发光检测读数。
- 多孔板：推荐使用白色或黑色不透明孔板进行检测，不同类型的孔板对检测结果有不同的影响。黑色孔板各检测孔间的影响较小，但是对发光信号的光强吸收较高；白色孔板各检测孔间有一定的影响，但是发光信号的光强几乎不会损失；透明孔板有利于细胞培养过程中的细胞状态观察，但是各检测孔间的发光信号干扰很大。可根据实验的不同需要选择合适的孔板进行细胞培养与检测。
- 为减少人为实验误差，检测大量样品时建议使用排枪添加试剂，请留意排枪各孔吸取体积是否一致。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1.0-202408

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

