

荧光素酶（firefly）检测试剂盒说明书



Version: HBRG-SLR-001

产品信息

产品名称	荧光素酶（firefly）检测试剂盒
货号	HB-SLR-100
存储及运输条件	-20℃或-80℃保存；冰袋运输
规格	100rxns
有效期	-20℃可保存半年，-80℃可保存一年

Luciferase (firefly) Reporter Assay Kit (100 rxns)	
Luciferase Reaction Buffer	10 ml
Luciferase Reaction Substrate	1 vial
Lysis Buffer (5X)	10 ml

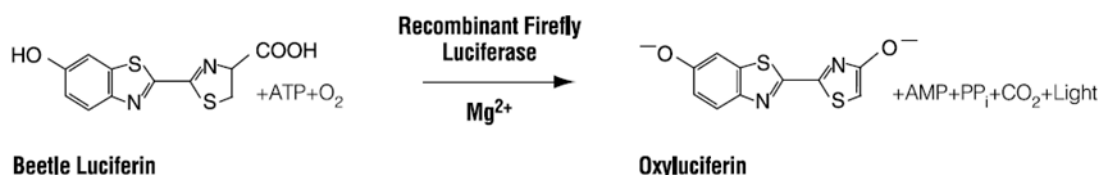
试剂盒需要避光保存。-20℃可保存半年，-80℃可保存一年。

反应试剂（Luciferase Reaction Reagent）加入相应底物后，建议分装，避免反复冻融。-20℃可保存一个月，-80℃可保存半年。

试剂使用前需平衡至室温。

实验原理

萤火虫荧光素酶（firefly luciferase, fluc）能催化荧光素（luciferin）产生生物荧光反应，反应过程如下图所示。



本检测试剂盒以荧光素为底物，检测荧光素酶（firefly）报告基因的活性。该方法具有操作简单、检测快捷、灵敏度高等优点。

实验步骤

1. 配制试剂

1.1 Lysis Buffer

Lysis Buffer (5X) 用水稀释 5 倍，配制成工作液；

1.2 Luciferase Reaction Reagent

用 Luciferase Reaction Buffer (10 ml) 稀释、混合 Luciferase Reaction Substrate（短暂离心再开盖），分装、避光保存，避免反复冻融。

2. 裂解细胞

2.1 细胞裂解时密度应小于 95%，细胞生长过密，易导致裂解不充分；质粒瞬转、病毒感染细胞后，需培养一段时间（一般 48 小时）使荧光素酶充分表达；调节实验参数，以满足上述条件；

2.2 去除培养基，用 PBS 润洗一遍，注意不要将细胞吹起；加入适量的 Lysis Buffer（可以将细胞吹起裂解），推荐用量见下表；

Multiwell Plate	Lysis Buffer/Well
6-well	500 μl
12-well	200 μl
24-well	100 μl
48-well	50 μl
96-well	30 μl

2.3 将细胞培养板置于摇床上，室温、轻晃孵育 15 分钟；

2.4 将裂解物转移到新的 EP 管中，4°C、12,000rpm 离心 10 分钟，取上清备用。

3. 荧光检测

取 20 μ l 裂解物，加入 100 μ l 平衡至室温的 Luciferase Reaction Reagent，混匀后于酶标仪中检测 fLuc 信号。