

双荧光素酶检测试剂盒说明书



Version: HBRG-DLR-001

产品信息

| | |
|---------|-----------------------|
| 产品名称 | 双荧光素酶检测试剂盒 |
| 货号 | HB-DLR-100 |
| 存储及运输条件 | -20°C或-80°C保存；冰袋运输 |
| 规格 | 100rxns |
| 有效期 | -20°C可保存半年，-80°C可保存一年 |

Dual-Luciferase Reporter Assay Kit (100 rxns)

| | |
|----------------------------------|--------|
| Luciferase Reaction Buffer | 10 ml |
| Luciferase Reaction Substrate | 1 vial |
| Luciferase Reaction Buffer II | 10 ml |
| Luciferase Reaction Substrate II | 1 vial |
| Lysis Buffer (5X) | 10 ml |

试剂盒需要避光保存。-20°C可保存半年，-80°C可保存一年。

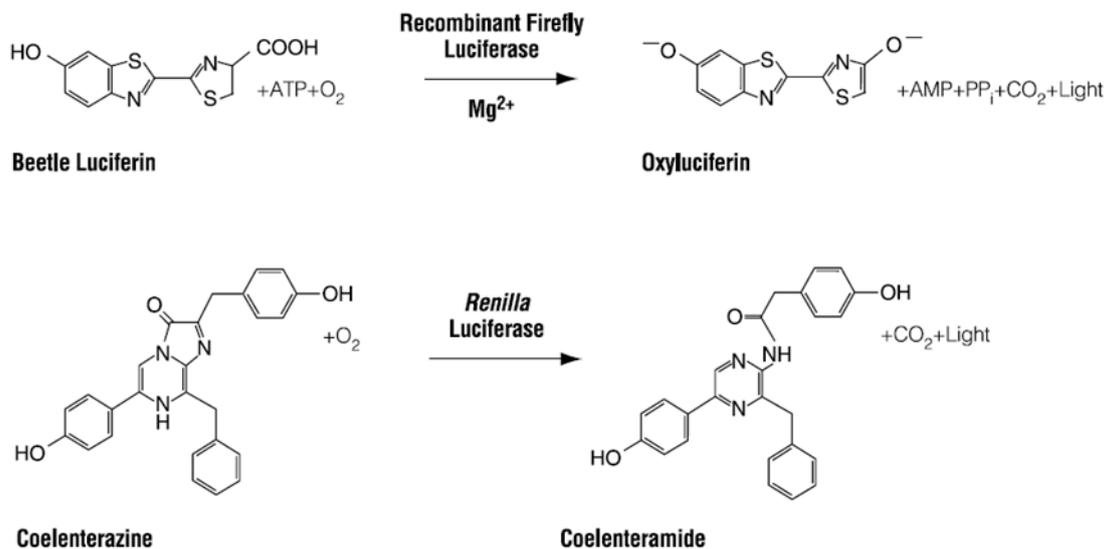
反应试剂（Luciferase Reaction Reagent 和 Luciferase Reaction Reagent II）加入相应底物后，建议分装，避免反复冻融。-20°C可保存一个月，-80°C可保存半年。

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）和海肾荧光素酶（renilla luciferase, rluc）可分别

催化荧光素 (luciferin) 和腔肠素 (coelenterazine) 产生生物荧光反应，反应过程如下图所示。



在双荧光素酶反应中，首先用 Luciferase Reaction Reagent 检测 fLuc 信号；随后，直接加入 Luciferase Reaction Reagent II，将 fLuc 的信号猝灭，同时产生 rLuc 信号。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。

1.3 Luciferase Reaction Reagent II

用 Luciferase Reaction Buffer II (10 ml) 稀释、混合 Luciferase Reaction Substrate II (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 μ l |
| 12-well | 200 μ l |
| 24-well | 100 μ l |
| 48-well | 50 μ l |
| 96-well | 30 μ l |

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

3.1 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;

3.2 然后加入 100 μ l 平衡至室温的 Luciferase Reaction Reagent II, 混匀后于酶标仪中检测 rLuc 信号。