

# 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。

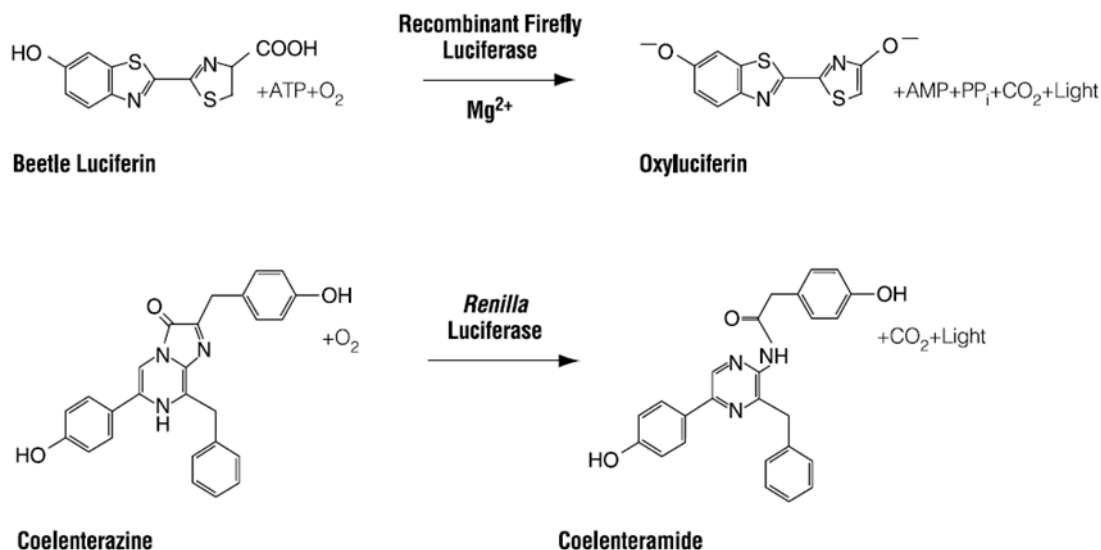
反应试剂（Luciferase Reaction Reagent 和 Luciferase Reaction Reagent II）加入相应底物后，建议分装，避免反复冻融。-20°C可保存一个月，-80°C可保存半年。

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 $\mu$ l
12-well	200 $\mu$ l
24-well	100 $\mu$ l
48-well	50 $\mu$ l
96-well	30 $\mu$ 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 $\mu$ l 裂解物，加入 100 $\mu$ 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 $\mu$ l 平衡至室温的 Luciferase Reaction Reagent II，混匀后于酶标仪中检测 rLuc 信号。