

## 海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
RG016	海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒	100次
RG017	海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒	1000次

### 产品简介:

- 碧云天生产的海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒(Renilla Luciferase Reporter Gene Assay Kit), 是一种以肠腔素(Coelenterazine)为底物来检测海肾萤光素酶(Renilla reniformis luciferase, 简称Renilla luciferase)活性的试剂盒。
- 本产品的总体性能优于国外主要产品。本产品的性能和用途与Promega公司的Renilla Luciferase Assay System基本相同。本产品的检测灵敏度显著优于国外同类产品(Competitor P), 发光强度比国外同类产品(Competitor P)提高了约50% (图1A), 化学发光的信号稳定性也略优于国外同类产品(Competitor P) (图1B)。本产品与国外同类产品(Competitor P)的检测效果比较参见图1。

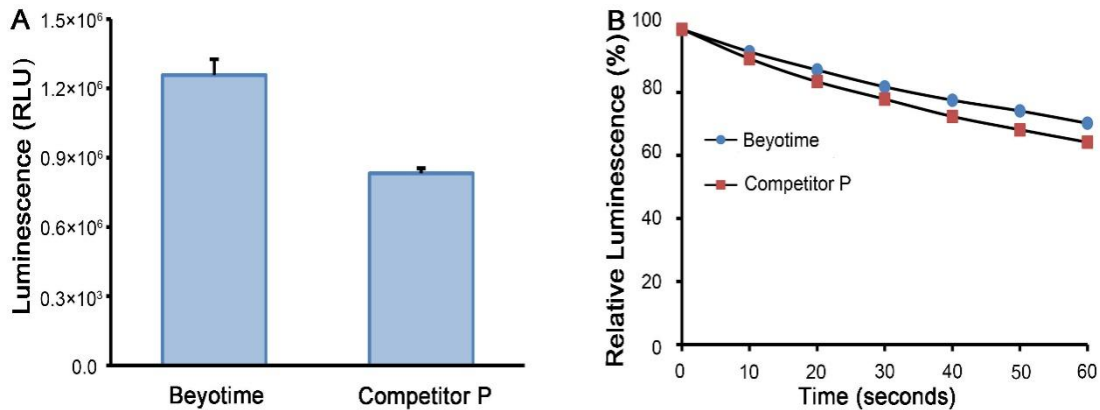


图1. 海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG016/RG017)的检测效果对比图。图中所示为本产品和国外同类产品(Competitor P)对转染阳性海肾萤光素酶报告基因质粒的HeLa细胞裂解样品的检测效果。图A为化学发光信号强度的检测效果对比图, 图B为化学发光信号稳定性的检测效果对比图。实际读数会因细胞种类、转染效率、所用质粒、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- **本产品发光强度高。**对于相同的样品, 本产品的发光效果比国外同类产品(Competitor P)高约50% (图1A)。
- **本产品操作简单, 检测速度快, 从样品制备到完成检测仅需约20分钟。**只需把试剂盒提供的海肾萤光素酶检测底物和海肾萤光素酶检测缓冲液按照1:100的比例混合配制成海肾萤光素酶检测工作液, 再取100微升海肾萤光素酶检测工作液与20-100微升裂解制备的细胞样品混合后即可立即进行化学发光检测。
- **本产品稳定性好。**本试剂盒中的海肾萤光素酶检测缓冲液和海肾萤光素酶检测底物(100X)的稳定性均较好。海肾萤光素酶检测缓冲液反复冻融10次、4°C或室温保存3天对检测效果基本无影响, 37°C保存1天仍可保留90%以上的检测效果。海肾萤光素酶检测底物(100X)在4°C保存1周、室温保存1天检测效果下降不超过10%, 室温保存3天、37°C保存1天, 仍可保留80%以上的活力。
- 海肾萤光素酶是一种分子量约为36kD的蛋白, 在氧气存在的条件下, 可以催化Coelenterazine氧化成Coelenteramide。在Coelenterazine氧化的过程中, 会发出生物荧光(bioluminescence)。生物荧光可以通过化学发光仪(luminometer)或液闪测定仪进行检测[1]。本试剂盒的检测原理参考图2。

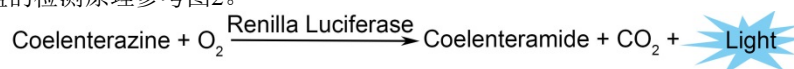


图2. 海肾萤光素酶的检测原理图。

- 通过萤光素和萤光素酶这一生物发光体系, 可以非常灵敏、高效地检测基因的表达。通常把感兴趣基因的转录调控元件或5'启动子区克隆在luciferase的上游, 或把3'-UTR区克隆在luciferase的下游等, 构建成报告基因(reporter gene)质粒。然后转染细胞, 用适当药物等处理细胞后裂解细胞, 测定萤光素酶活性。通过萤光素酶活性的高低来判断药物处理等对目的基因的转录调控作用。海肾萤光素酶一方面常用作萤火虫萤光素酶报告基因检测的内参, 以消除由于质粒的转染效率不同而带来的误差; 另一方面海肾萤光素酶也可以和萤火虫萤光素酶一样被用于常规的报告基因检测[2]。
- 关于碧云天萤光素酶报告基因检测试剂盒相关产品的比较和选择, 请参考碧云天的相关网页:  
<http://www.beyotime.com/support/luciferase-reporter-gene-assay.htm>

- 萤光素、萤光素酶、萤火虫萤光素酶和海肾萤光素酶也经常被称作荧光素、荧光素酶、萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶。
- 海肾萤光素酶催化Coelenterazine发光的最强发光波长为465nm (centered around 465nm)。
- 本试剂盒RG016和RG017分别可以测定100个和1000个样品。

### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
RG016-1	海肾萤光素酶报告基因细胞裂解液	60ml
RG016-2	海肾萤光素酶检测缓冲液	10ml
RG016-3	海肾萤光素酶检测底物(100X)	100μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
RG017-1	海肾萤光素酶报告基因细胞裂解液	RG016-1×10
RG017-2	海肾萤光素酶检测缓冲液	RG016-2×10
RG017-3	海肾萤光素酶检测底物(100X)	RG016-3×10
—	说明书	1份

### 保存条件：

海肾萤光素酶报告基因细胞裂解液和海肾萤光素酶检测缓冲液，4℃保存3个月有效，-20℃保存一年有效；海肾萤光素酶检测底物(100X)，-20℃避光保存6个月有效，-80℃避光保存一年有效。

### 注意事项：

- 为取得最佳测定效果，在用单管的化学发光仪测定时，样品和测定试剂混合后到测定前的时间应尽量控制在相同时间内，例如30秒内；使用具有化学发光测定功能的多功能荧光酶标仪时，宜先把样品全部加好，然后统一加入海肾萤光素酶检测工作液。
- 本试剂盒的海肾萤光素酶检测缓冲液在反复冻融过程中，可能会导致检测试剂中出现少量沉淀，此时宜平衡至室温，并尽量溶解。如仍有残留的不溶物，混匀后直接使用，经测试通常不会影响后续的检测效果。
- 由于萤光素酶的活性对温度比较敏感，所以反应前样品和检测试剂均需达到室温后再进行测定。
- 样品和测定试剂混合后，必须等待1-2秒，再进行测定。测定时间通常为10秒，根据情况也可以测定更长或更短时间，但是同一批样品宜使用相同的测定时间。
- 检测时需使用白色或黑色的96孔板。如果使用普通透明的96孔板，相邻孔之间会产生相互干扰。推荐使用碧云天的BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(FCP966)或BeyoGold™全白96孔细胞培养板(FCP968)。
- 海肾萤光素酶检测底物(100X)配制在无水乙醇中。由于无水乙醇容易挥发，有时会在初次使用时发现体积明显小于100μl的情况，此时用无水乙醇把体积补足至100μl，并混匀后即可使用。
- 海肾萤光素酶检测工作液宜配制后立即使用。如不能立即使用，-20℃可以保存一周。随着保存时间的延长检测效果会不断下降，因此不可配制成工作液后长期保存。
- 为避免由于质粒转染细胞时效率的差异而带来的误差，可以同时转入适当的萤火虫萤光素酶(firefly luciferase)的报告基因质粒作为内参，采用碧云天的双萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG027/RG028)进行检测；也可以同时转入β-半乳糖苷酶(β-galactosidase, β-gal)报告基因质粒作为内参，然后采用碧云天生产的β-半乳糖苷酶报告基因检测试剂盒(RG0036)进行检测。采用本试剂盒中的报告基因细胞裂解液裂解获得的样品可以直接用于β-半乳糖苷酶报告基因检测试剂盒(RG0036)的检测。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明：

- 裂解细胞：将报告基因细胞裂解液充分混匀后，按如下方式加入报告基因细胞裂解液，充分裂解细胞。
  - 对于贴壁细胞：吸尽细胞培养液后，参考下表加入适量的报告基因细胞裂解液；对于悬浮细胞：离心去上清后，参考下表加入适量报告基因细胞裂解液。

器皿类型	96孔板	48孔板	24孔板	12孔板	6孔板
报告基因细胞裂解液(微升/孔)	100	150	200	300	500

注：如果萤光素酶的表达水平比较低，可以尝试使用更少的裂解液，例如6孔板的每孔用量可以最小为100微升。

- 充分裂解后，10,000-15,000×g离心3-5分钟，取上清用于测定。
 

注：细胞裂解后可以立即测定萤光素酶，也可以先冻存，待以后再测定。冻存样品需融解，并达到室温后再进行测定。
- 融解海肾萤光素酶检测缓冲液，并达到室温。海肾萤光素酶检测底物(100X)置于冰浴或冰盒上备用。
  - 按照检测每个样品需100微升检测工作液的量，配制适量海肾萤光素酶检测工作液。按照1:100的比例混合适量海肾萤光素酶检测底物(100X)和海肾萤光素酶检测缓冲液，即配制成海肾萤光素酶检测工作液。例如，1毫升海肾萤光素酶检测缓冲液中加入10微升海肾萤光素酶检测底物(100X)充分混匀后即可配制成约1毫升海肾萤光素酶检测工作液。

- 按仪器操作说明书开启化学发光仪或具有检测化学发光功能的多功能酶标仪，可以将测定间隔设为2秒，测定时间设为10秒，或者根据仪器设备的要求并根据实验需要设置适当的间隔时间和测定时间。
- 每个样品测定时，取样品20-100微升(如果样品量足够，请加入100微升；如果样品量不足可以适当减少用量，但同批样品的使用量宜保持一致)，取等体积的报告基因细胞裂解液作为空白对照。
- 加入100微升海肾萤光素酶检测工作液，用枪打匀或用其它适当方式混匀后测定RLU (relative light unit)。本试剂盒的检测效果以及同类竞争产品的检测效果比较可以参考图1。

#### 常见问题：

##### 1. Luminometer和荧光分光光度计有何不同？

荧光分光光度计检测的样品本身不能发光，样品需要由特定波长的激发光激发，然后才能产生荧光并被荧光分光光度计检测。Luminometer检测的样品本身可以发光，不需要激发光进行激发。也就是说luminometer是检测化学发光(萤光)的仪器。有些型号的荧光分光光度计也具有luminometer的功能，即也可以检测化学发光。您所使用的荧光分光光度计能否用于化学发光的测定请仔细阅读该仪器的说明书。

##### 2. 可以进行ATP化学发光检测的仪器是否就可以用于本试剂盒的检测？

是。ATP化学发光的检测原理和本试剂盒的原理相同，可以用相同的仪器测定。

#### 参考文献：

- Matthews J C, Hori K, Cormier M J. *Biochemistry*. 1977. 16(1):85-91.
- E Schenborn, D Groskreutz. *Mol Biotechnol*. 1999. 13:29-44.

#### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
RG005/RG006	萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	100/1000次
RG007S/M	萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒II	100/1000次
RG009S/M	萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(增强型)	100/1000次
RG010S/M	萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒II(增强型)	100/1000次
RG016/RG017	海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒	100/1000次
RG027/RG028	双萤光素酶报告基因检测试剂盒	100/1000次
RG029S/M	双萤光素酶报告基因检测试剂盒II	100/1000次
RG051S/M	Bright-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	100/1000次
RG052S/M	Bright-Lumi™ II萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	100/1000次
RG055S/M	One-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	100/1000次
RG056S/M	One-Lumi™ II萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	100/1000次
RG058S/M	Steady-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	100/1000次
RG059S/M	Steady-Lumi™ II萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	100/1000次
RG062S/M	Renilla-Lumi™海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒	100/1000次
RG066S/M	Renilla-Lumi™ Plus海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒	100/1000次
RG088S/M	Dual-Lumi™双萤光素酶报告基因检测试剂盒	100/1000次
RG089S/M	Dual-Lumi™ II双萤光素酶报告基因检测试剂盒	100/1000次
RG126S/M	萤火虫萤光素酶报告基因细胞裂解液	10/100ml
RG127S/M	萤火虫萤光素酶报告基因细胞裂解液(增强型)	10/100ml
RG129S/M	海肾萤光素酶报告基因细胞裂解液	10/100ml
RG132S/M	双萤光素酶报告基因细胞裂解液	10/100ml

#### 使用本产品的文献：

- Huang GH, Du L, Li N, Zhang Y, Xiang Y, Tang JH, Xia S, Zhang EE, Lv SQ. Methylation-mediated miR-155-FAM133A axis contributes to the attenuated invasion and migration of IDH mutant gliomas. *Cancer Lett*. 2018 Sep 28;432:93-102.

Version 2022.10.18