碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-1683301或800-8283301
订货e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

碧云天网站 微信公众号

Steady-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
RG058S	Steady-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	100次
RG058M	Steady-Lumi™萤火虫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Steady-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(Steady-Lumi™ Firefly Luciferase Reporter Gene Assay Kit，Steady-Lumi™ Firefly Luciferase Assay Kit)，简称Steady-Lumi，是一种无需洗涤或收集细胞的通过化学发光法直接测定细胞内萤火虫萤光素酶(firefly luciferase)活性的高灵敏度、超高信号稳定性的一步法检测试剂盒。
- 本产品是Steady-Lumi™ II萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(简称Steady-Lumi II，产品编号为RG059)的不同包装版本，两者的检测效果完全一致。本产品，即Steady-Lumi为即用型液体，其优点是无需配制即可以直接使用，但需要-80ºC保存。如果在-20ºC保存时间较长后检测效果会逐渐下降。Steady-Lumi II，为Steady-Lumi的冻干粉版本，优点是在-20ºC保存非常稳定，缺点是使用前需要使用提供的缓冲液充分溶解底物冻干粉后才能使用。
- 本试剂盒提供的Steady-Lumi™萤火虫萤光素酶检测试剂，按照与培养液等体积的比例加入到细胞培养板内反应5分钟，即可进行化学发光检测。本试剂盒使用灵活便捷、检测灵敏度高、发光信号特别稳定、测定样品的线性范围宽，信号的半衰期长达5小时，性能优于国外主要同类产品。另外，本产品也可以用于裂解并收集保存的细胞样品的检测。
- **本产品的性能优于国外主要同类产品。**本产品的用途与碧云天的同类产品Bright-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(简称Bright-Lumi)、One-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(简称One-Lumi)及Promega公司的Steady-Glo™ Luciferase Assay System (简称Steady-Glo)基本相同，但本产品的化学发光的信号稳定性显著优于Bright-Lumi和One-Lumi (图1D)，与国外同类产品(Competitor P)基本一致(图1B)；发光强度比国外同类产品(Competitor P)提高了约40%以上(图1A)，但Bright-Lumi和One-Lumi的灵敏度更高(图1C)。本产品与Bright-Lumi、One-Lumi和国外同类产品(Competitor P)的检测效果比较参见图1。

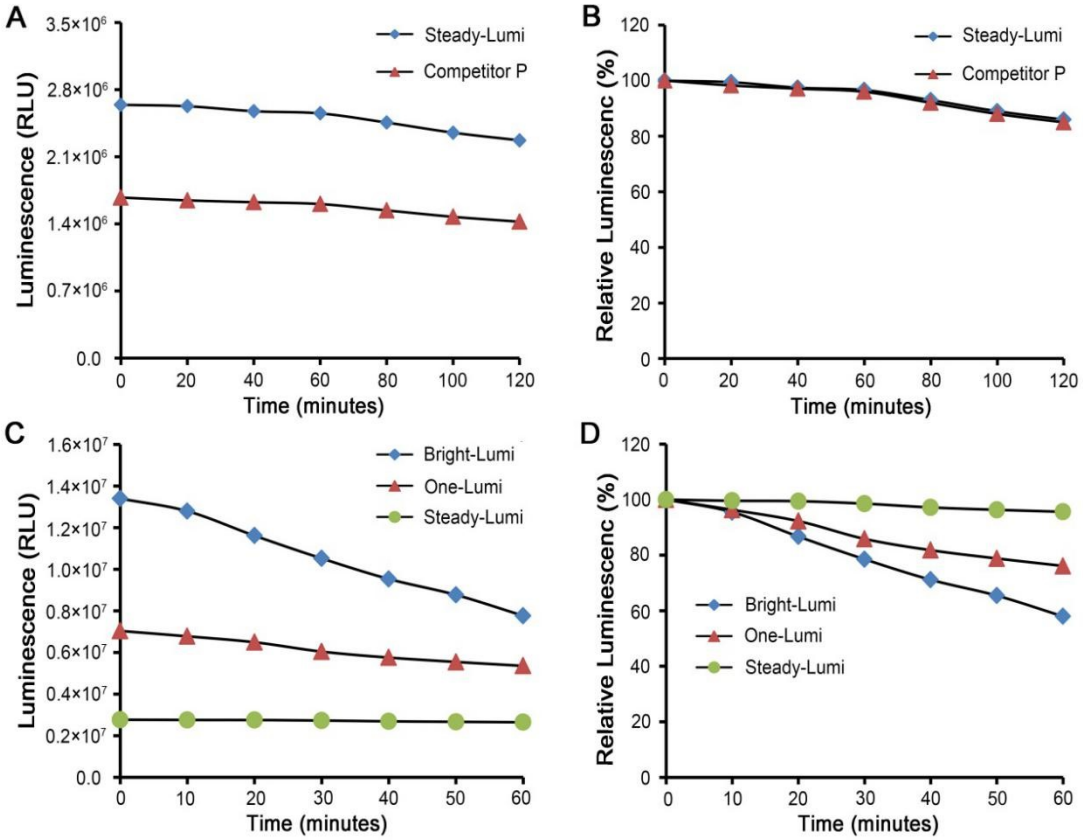

图1. Steady-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(Steady-Lumi)和碧云天的同类产品Bright-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(Bright-Lumi)、One-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(One-Lumi)及国外同类产品(Competitor

P)对转染阳性萤火虫萤光素酶报告基因质粒的HeLa细胞的检测效果。图A和图B为Steady-Lumi和Competitor P的化学发光强度和化学发光稳定性的检测效果对比图，图C和图D为Steady-Lumi和One-Lumi、Bright-Lumi的化学发光强度和化学发光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、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

- **本产品发光信号特别稳定。**发光信号在60分钟内波动不超过10%，反应120分钟内信号波动不超过20%，信号半衰期长达5小时之久，在发光稳定性方面显著优于同类产品Bright-Lumi和One-Lumi(图1D)，特别适用于96孔板或384孔板中萤火虫萤光素酶活性的大批量测定。
- **本产品发光强度高。**对于相同的细胞样品，本产品的发光效果虽然低于同类产品Bright-Lumi和One-Lumi(图1C)，但是比国外同类产品(Competitor P)强约40-100%(图1A)，实测效果的差异可能会因细胞种类、检测环境等的不同有所不同。如果样品中萤火虫萤光素酶的表达水平非常低时，推荐使用灵敏度更高的Bright-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG051S/M)或One-Lumi™萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG055S/M)。
- **本产品的检测灵敏度高，测定样品的线性范围宽。**96孔板中，本产品可以在20万个细胞范围内呈现良好的线性关系。不同的细胞、不同的萤光素酶表达水平时的检测细胞数量上限可能有所差异，当萤火虫萤光素酶表达水平非常高时，可能只在10万个细胞范围有良好的线性关系，但是化学发光读数还是会随着细胞数量的增加而继续升高的。本产品对转染萤火虫萤光素酶报告基因质粒的不同数量的HeLa细胞的检测效果参见图2。

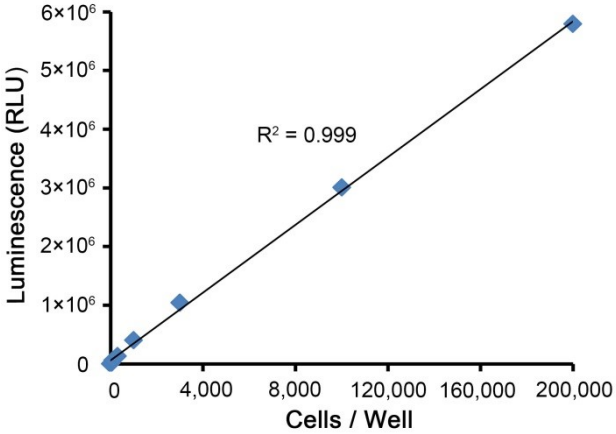

图2. 本产品对转染萤火虫萤光素酶报告基因质粒的不同数量的HeLa细胞的检测效果。根据共转的EGFP表达质粒，实测转染效率约为60-70%。实际读数会因细胞种类、转染效率、所用报告基因质粒、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

- **本产品操作简单，读数稳定，检测速度快，完成检测仅需约10分钟。**本产品比其它萤光素酶测定方法更加简单快捷。细胞可以在同一块多孔板中培养和检测，无需洗涤细胞，也无需更换或去除培养液，只需把试剂盒提供的Steady-Lumi™萤火虫萤光素酶检测试剂与培养细胞等体积混合，反应10分钟后即可进行化学发光检测。并且产生的化学发光信号非常稳定，信号半衰期长达5小时。使用可以测定96孔板的化学发光的多功能酶标仪通常在2分钟内就可以完成一块96孔板的检测。
- **本产品稳定性好。**本试剂盒中的Steady-Lumi™萤火虫萤光素酶检测试剂稳定性较好，反复冻融5次检测效果下降不超过5%，反复冻融10次检测效果下降不超过15%。本产品4ºC条件下，保存3天检测效果下降不到25%，保存5天检测效果下降不超过35%，保存7天仍可保留60%以上的检测效果。室温保存1天可保留70%以上的检测效果，室温保存3天可保留50%以上的检测效果，37ºC保存1天可保留50%以上的检测效果。
- **本产品使用灵活便捷。**本产品不仅适合少量样品的检测，也非常适合大量样品的高通量检测(high-throughput screening)。本产品不仅可以等体积加入到细胞培养孔中进行直接检测，也可以先使用RG126S/M萤火虫萤光素酶报告基因细胞裂解液裂解并收集细胞后再用本产品进行检测。
- **本产品兼容性强。**本产品兼容各种常见培养液，正常培养液中的酚红、10%以内的胎牛血清或小牛血清、2%以内的DMSO或乙醇对信号和稳定性基本没有影响，常用的盐类或金属离子在正常浓度下也基本没有影响。
- 萤火虫萤光素酶(firefly luciferase)是一种分子量约为61kD的蛋白，在ATP、镁离子和氧气存在的条件下，可以催化luciferin氧化成oxyluciferin，在luciferin氧化的过程中，会发出波长为560nm左右的生物萤光(bioluminescence)。生物萤光可以通过化学发光仪(luminometer)或液闪测定仪进行测定。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等处理对目的基因的转录调控作用。本试剂盒的检测原理参考图3。

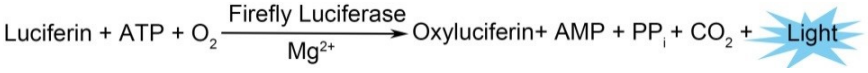

图3. 萤火虫萤光素酶的检测原理图。

- 碧云天的三款一步法萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒的主要特点和差异如下。如果希望发光信号比较强，并在30分钟内即可进行检测，推荐使用Bright-Lumi；如果对信号稳定性要求特别高，需要批量或连续操作，推荐使用Steady-Lumi；如果对发光信号和稳定性都有要求，推荐使用One-Lumi。

产品编号	RG051S/M	RG055S/M	RG058S/M	RG059S/M
产品简称	Bright-Lumi	One-Lumi	Steady-Lumi	Steady-Lumi II
使用便捷性	非常方便	非常方便	非常方便	方便
检测灵敏度	特别灵敏	非常灵敏	较灵敏	较灵敏
信号强度	非常高	较高	高	高
信号半衰期	0.5-1小时	1-2小时	5-6小时	5-6小时
产品稳定性	非常稳定	非常稳定	非常稳定	特别稳定
线性范围(细胞	50个-10万个	50个-10万个	50个-20万个	50个-20万个
推荐指数	★★★★★	★★★★	★★★★	★★★★

- 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。
- 对于96孔板，推荐使用100μl细胞培养液和100μl的检测试剂，总体积为200μl，此时本试剂盒每10ml可以进行100次检测。对于384孔板，推荐使用25μl细胞培养液和25μl的检测试剂，总体积为50μl，此时本试剂盒每10ml可以进行400次检测。也可以用其它体积的试剂进行检测，但细胞培养液和检测试剂体积的比例须为1:1。虽然我们有检测数据显示适当减少检测试剂的用量很可能仍然会得到较好的检测结果，但对于细胞数量偏多、细胞数量特别少或者重复性要求比较高的情况，建议按照推荐用量进行检测。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
RG058S	Steady-Lumi™萤光素酶检测试剂	10ml
RG058M	Steady-Lumi™萤光素酶检测试剂	100ml
—	说明书	1份

保存条件：

-80ºC避光保存，至少一年有效；-20ºC避光保存，推荐3-6个月内使用。

注意事项：

- 本产品在-20ºC保存其检测效果会逐渐下降，保存半年后其发光效果会降低约50%。因此，本产品如果保存于-20ºC，推荐在3-6个月内使用。如果订购后可能放置较长时间后再使用，推荐订购在-20ºC保存非常稳定的Steady-Lumi™ II萤火虫萤光素酶检测试剂盒(RG059)。
- 由于萤光素酶的活性对温度比较敏感，所以反应前细胞和检测试剂均需达到室温后再进行测定。可将检测试剂在室温或不超过25°C的水浴中融解并混匀后使用。
- 尽管经测试本试剂反复冻融5次对于其检测效果的影响不大，为保证本产品的稳定性、取得良好的使用效果，第一次解冻后可以采取适当分装后避光保存的方法，以避免反复冻融和长时间暴露于室温。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，可以离心去除后使用，经测试不会影响后续的检测效果。
- 请使用适合于细胞培养的白色或黑色的96孔板或384孔板。如果使用普通透明的96孔板或384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)。
- 待测药物的溶剂含量较高时可能会干扰萤光素酶反应，从而影响化学发光信号。可以通过设置含有溶剂的细胞培养液对照孔排除溶剂的干扰。经测试，最终反应体系中DMSO含量在2%以内不会对反应产生影响。
- 为避免细胞转染效率的差异而带来的误差，如果有必要，可以同时转染海肾萤光素酶(*Renilla* luciferase)的报告基因质粒作为内参，采用碧云天的Dual-Lumi™/Dual-Lumi™ II双萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG088S/RG088M/RG089S/RG089M)进行检测。
- 如果希望先裂解并收集细胞样品，然后再使用本试剂盒进行检测，须单独采购RG126S/M萤火虫萤光素酶报告基因细胞裂解液。其它裂解液未经测试。
- 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：

1. 细胞的准备：

使用适合进行化学发光检测的96孔板，每孔接种100μl细胞(如使用384孔板，每孔接种25μl细胞，具体用量视不同类型的384孔板而定)，同时设置不含细胞的培养液孔作为阴性对照，按照细胞培养和细胞转染的常规方法培养和转染细胞。如有需要，可加入药物处理细胞。

2. 检测试剂的准备：

融解冻存的Steady-Lumi™萤火虫萤光素酶检测试剂，按照96孔板每孔100μl (384孔板每孔25μl)的量，取适量Steady-Lumi™萤火虫萤光素酶检测试剂，平衡至室温。

3. 萤光素酶检测：

a. 取出细胞培养板在室温平衡10分钟(通常不宜超过30分钟)。

b. 96孔板每孔加入100μl Steady-Lumi™萤火虫萤光素酶检测试剂(384孔板每孔25μl)。

c. 室温(约25ºC)孵育10分钟，使发光信号趋于稳定。

d. 使用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪进行化学发光检测。请根据仪器要求设置相应的参数，每个孔的检测时间一般为0.25-1秒或更长时间，具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。

4. 裂解并收集细胞后的检测(本步骤仅当细胞量比较大的情况下，例如细胞培养在培养皿或6孔板中时，可以考虑采用)：

a. 对于贴壁细胞：吸尽细胞培养液后，参考下表加入适量的RG126S/M萤火虫萤光素酶报告基因细胞裂解液；对于悬浮细胞：离心去上清后，参考下表加入适量萤火虫萤光素酶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(μl/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。

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

注：细胞裂解后可立即测定萤光素酶，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。

c. 取20μl样品，加入100μl已经融解并平衡至室温的Steady-Lumi™萤火虫萤光素酶检测试剂，适当混匀。

d. 室温(约25ºC)孵育5分钟，使发光信号趋于稳定。**注意：**如果对于数据的稳定性的要求不太高，可以忽略本步骤，在混匀后立即进行化学发光检测。

e. 使用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪进行化学发光检测。请根据仪器要求设置相应的参数，每个孔的检测时间一般为0.25-1秒或更长时间，具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。

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. 可以进行萤光素酶报告基因检测的仪器是否就可以用于本试剂盒的检测？

是。萤光素酶报告基因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。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0508	磷酸钙法细胞转染试剂盒	>200次
C0526-0.5ml	Lipo6000™转染试剂	0.5ml
C0526-1.5ml	Lipo6000™转染试剂	1.5ml
C0526-7.5ml	Lipo6000™转染试剂	5×1.5ml
D2102-1μg	pGL6 (报告基因质粒)	1μg
D2105-1μg	pGL6-TA (报告基因质粒)	1μg
D2106-1μg	pGL6-miR (报告基因质粒)	1μg
D2762-1μg	pRL-SV40-N (报告基因质粒)	1μg
D2768-1μg	pRL-SV40-C (报告基因质粒)	1μg
FCP966-80pcs	BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	80个/盒
FCP966-320pcs	BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	80个/盒, 320个/箱
FCP968-80pcs	BeyoGold™全白96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	80个/盒
FCP968-320pcs	BeyoGold™全白96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	80个/盒, 320个/箱
RG005	萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	100次
RG006	萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒	1000次
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
RG027	双萤光素酶报告基因检测试剂盒	100次
RG028	双萤光素酶报告基因检测试剂盒	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
RG129S/M	海肾萤光素酶报告基因细胞裂解液	10/100ml

Version 2019.12.04