

## Nano&Firefly-Glo Luciferase Reporter Assay Kit

### Nano&Firefly-Glo 双萤光素酶报告基因检测试剂盒

产品编号: MA0522 规格: 100T / 1000T

#### 产品内容

产品组成	MA0522-1	MA0522-2
	100T	1000T
Dual-FIREFLYGLO EX Luciferase Reaction Buffer	10mL	100mL
Dual-FIREFLYGLO EX Luciferase Substrate	1 vial	1 vial
Stop&NANOLIGHT Reaction Buffer	10mL	100mL
Stop&NANOLIGHT Substrate (100x)	100μL	1mL
说明书	1 份	1 份

#### 产品简介

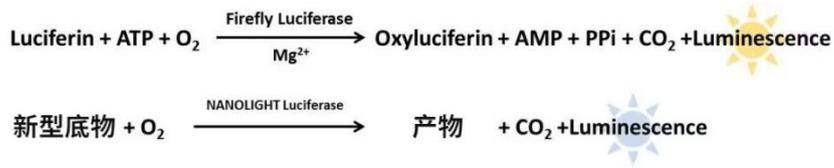
“双报告基因”检测系统通常被用来提高实验精确度，即在一个系统中同时表达和测量两个独立的报告基因。一般来说，实验组报告基因与具体实验条件的影响是相关的，而共同转染的内对照组报告基因则是用来充当校正参数，作为内参提供反应基线。将实验组的结果与内对照组的结果进行约化处理，可降低由细胞存活率或转染效率的差异而导致的结果波动，同时还可消除仪器测定引起的实验误差。因此，双报告基因检测可以通过减少外部影响来获得更可靠的实验数据。

美仑 Nano&Firefly-Glo 双萤光素酶报告基因检测系统是一种辉光型定量检测试剂盒，具有高灵敏度和发光信号稳定的特点，符合高通量检测的需求。该检测试剂盒在同一个样品中先以一种新型萤光素为底物来检测萤火虫萤光素酶（Firefly luciferase），后以新型底物来检测 NANOLIGHT 萤光素酶，同时淬灭 Firefly luciferase 的萤光信号，实现双萤光素酶报告基因检测。

相比于美仑辉光型 Firefly&Renilla-Light 双萤光素酶报告基因检测试剂盒（MA0520），本品 Nano&Firefly-Glo Luciferase Reporter Assay Kit（MA0522）具有以下优点：采用了全新的萤光素酶检测新型底物和 NANOLIGHT 萤光素酶，具有更高的发光强度，该辉光型试剂盒近乎达到了闪光型双萤光素酶报告基因检测试剂盒（MA0518）的灵敏度；具有更好的发光信号的稳定性，近乎 2 小时的信号半衰期为实验设计提供了更大的灵活性；高通量检测无需依赖自动进样器，并且无需弃培养液、离心等步骤，简化了实验流程；本试剂盒组分做了大量优化，与传统闪光型产品相比，无明显刺激性气味。Nano&Firefly-Glo 双萤光素酶报告基因检测试剂盒可用于多种常用细胞培养液：RPMI 1640、DMEM、MEM-α、F12、DMEM/F12 等，其半衰期均为 2 小时左右（22℃），满足绝大多数高通量实验需求。



反应原理如下：



## 使用方法

### （一）自备材料

PBS；多道排枪；白色不透光细胞培养板；化学发光仪或酶标仪。

### （二）检测前准备

1. 首次使用时将 Dual-FIREFLYGLO EX Luciferase Reaction Buffer 一次性全部倒入 Dual-FIREFLYGLO EX Luciferase Substrate 瓶中，充分混匀直至所有底物溶解。按使用需求进行分装，建议-70℃长期保存或者短期存放于 -20℃不超过一个月，并尽快使用。

2. Stop & NANOLIGHT Substrate (100x)，每次开盖前需进行短暂低速离心。

3. 根据实际使用量，以 100:1 的比例将适量的 Stop & NANOLIGHT Reaction Buffer 与 Stop & NANOLIGHT Substrate (100x)混匀，室温避光备用。例如：如果需要 100ml 反应液，则需要加入 1ml 的检测底物。

注：建议现配现用，剩余的含有底物的反应液在当次实验结束后，直接舍弃，不要留存。

### （三）操作方法

1. 从细胞培养箱中取出细胞培养板，放置 5-15min，恢复至室温。

注：使用白色不透光的细胞培养板，减少孔间的信号干扰。

#### 2. Firefly Luciferase 反应检测

①使用多道排枪向每个细胞孔中加入平衡至室温的含有底物的 Dual-FIREFLYGLO EX Luciferase Reaction Buffer，加样体积与细胞培养液体积相同并混匀。由于需要分别加入两种检测溶液，为防止孔板液体溢出，96 孔板建议加入 80μl 培养液，相应加入 80μl 检测溶液。

②室温下孵育 5-10min。为了使细胞裂解充分，也可将细胞培养板放在振荡混匀仪或附带振板功能的仪器上，室温条件下，采用中高速振板 5-10min。

注：孵育时间，可根据细胞量进行适当调整，确保细胞充分裂解，得到稳定的发光检测结果。

③孵育后于化学发光仪或酶标仪中检测 Firefly Luciferase 报告基因活性。

注：发光信号会逐渐衰减，为得到最佳检测结果，请在加入检测试剂后 2 小时内完成检测。

#### 3. NANOLIGHT Luciferase 反应检测

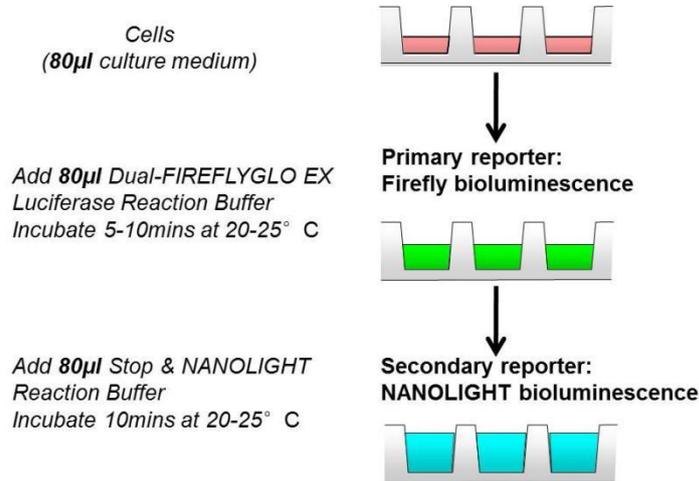
①使用多道排枪向每个细胞孔中加入平衡至室温的含有底物的 Stop & NANOLIGHT Reaction Buffer，加样体积与初始细胞培养液体积相同并充分混匀。例如，96 孔板建议加入 80μl 培养液，相应加入 80μl 检测溶液。



②将细胞培养板放在振荡混匀仪或附带振板功能的仪器上，室温条件下，采用中高速振板至少 3min。使溶液充分混匀，得到最佳淬灭效果。

③孵育至少 10min 后（包括前面振板 3min）于化学发光仪或酶标仪中检测 NANOLIGHT Luciferase 报告基因活性。

注：发光信号会逐渐衰减，为得到最佳检测结果，请在加入检测试剂后 2 小时内完成检测。



## 保存条件

全新试剂盒-20℃保存，自生产之日起一年有效；

溶解分装后的 Dual-FIREFLYGLO EX Luciferase Substrate 于-70℃避光保存一年，或-20℃短期保存不超过一个月。

## 注意事项

1. 检测仪器选择：能够检测化学发光的仪器都适用本试剂盒的检测，但是针对相同的样品，不同检测器本底信号值和测量值均可能不同；且对于同一样本检测，不同仪器的数值不可横向比较。为防止孔间干扰，推荐使用不透明白色细胞培养板。
2. 由于发光信号会受到检测环境如培养基组分、温度等影响，所以应确保同组内不同样本检测条件一致。
3. 酶促反应对温度较为敏感，加样检测前务必将检测试剂以及细胞培养板平衡至室温。
4. NANOLIGHT 萤光素酶具有超强信号稳定性，半衰期可达 2 小时。但是当酶表达量过高时，信号半衰期会缩短，建议优化实验设计方案（如减少质粒转染量），避免萤光素酶表达量过高。
5. 为取得最佳检测结果，加入 Stop & NANOLIGHT Reaction Buffer 后，需要孵育至少 10min 才可以检测 NANOLIGHT Luciferase 报告基因活性，其中包括振动混匀至少 3min。
6. Stop & NANOLIGHT Substrate(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包装规格的情况，此时用无水乙醇把体积补足至包装规格，并混匀后即可使用。
7. 萤火虫萤光素酶催化的生物发光的最强波长为 560 nm，NANOLIGHT 萤光素酶催化的生物发光的最强波长为 460 nm。

Y240704

