

Renilla 萤光素酶报告基因检测试剂盒（辉光高亮型）

R1375756

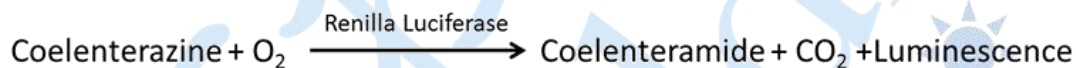
储存温度 -20℃ 储存，避光储存。

产品介绍

本产品是一种具有超高灵敏度、稳定、均质的海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒，发光强度比 Renilla 萤光素酶报告基因检测试剂盒（标准型）提高了约 2-6 倍。本产品无需洗涤或收集细胞即可通过化学发光法直接测定细胞内海肾萤光素酶(sea pansy (Renilla reniformis) luciferase, 简称 Renilla luciferase)活性。在细胞培养板内加入与培养液等体积的检测试剂反应 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、测定样品的线性范围宽，性能优于国内主要同类产品。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。

本试剂盒为即配即用型试剂，集细胞裂解、海肾萤光素酶检测于一体，通过“加入-混合-检测”免去了先裂解后检测的实验步骤，而且稳定的“辉光”更适合高通量样品的检测。

反应原理如下：



组分表

R1375756	Component	100T	1000T	Storage
R1375756A	萤光素酶报告基因细胞裂解液 (5×)	10 mL	30 mL	-20℃. Store in the dark.
R1375756B	Renilla 萤光素酶 plus 检测缓冲液	10 mL	100 mL	-20℃. Store in the dark.
R1375756C	Renilla 萤光素酶 plus 检测底物 (100×)	100 μL	1 mL	-20℃. Store in the dark.

产品优势

- 1、本产品发光强度高：发光强度比 Renilla 萤光素酶报告基因检测试剂盒（标准型）提高了约 2-6 倍，特别适合 Renilla 萤光素酶表达量低的样品。
- 2、本产品操作便捷，读数稳定，检测速度快：本产品集细胞裂解、海肾萤光素酶检测于一体，只需要加样-读板，即可完成实验。产生的光信号半衰期约 15min，发光信号稳定。
- 3、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。

海肾萤光素酶报告基因产品对比

阿拉丁的三款海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒的主要特点和差异如下。

如果对发光信号要求非常高，可以立即进行检测，推荐使用 Renilla 萤光素酶报告基因检测试剂盒（闪光型）（货号 S1375702）；

如果对发光信号和稳定性都有要求，需要批量或连续操作，推荐使用 Renilla 萤光素酶报告基因检测试剂盒（标准型）（货号 R1375759）；

如果对发光信号有一定要求，推荐使用 Renilla 萤光素酶报告基因检测试剂盒（辉光高亮型）（货号 R1375756）。

产品货号	产品名称	发光类型	信号强度	灵敏度	半衰期	包装	批量样品检测	是否可以搭配 Firefly 作为内参使用	是否为一歩法可直接用于细胞检测
R1375759	Renilla 萤光素酶报告基因检测试剂盒（标准型）	辉光型	高	灵敏	1h	一瓶溶剂 一管底物	非常合适	是	是
S1375702	Renilla 萤光素酶报告基因检测试剂盒（闪光型）	闪光型	非常高	非常灵敏	3-5min	一瓶裂解液 一瓶溶剂 一管底物	不适合	是	否
R1375756	Renilla 萤光素酶报告基因检测试剂盒（辉光高亮型）	辉光型	很高	很灵敏	15-20 min	一瓶裂解液 一瓶溶剂 一管底物	非常合适	否	是

使用说明:

一、自备材料

PBS; 多道排枪; 白色或黑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、Renilla 萤光素酶 plus 检测底物 (100×), 每次开盖前需进行短暂低速离心。

2、Renilla 萤光素酶 plus 检测工作液配制: 根据实际使用量, 以 100:1 的比例将适量的 Renilla 萤光素酶 plus 检测缓冲液与 Renilla 萤光素酶 plus 检测底物 (100×) 混匀, 室温避光备用。例如, 将 1mL Renilla 萤光素酶 plus 检测底物加入 100mL Renilla 萤光素酶 plus 检测缓冲液并充分混匀, 即可制得 101mL Renilla 萤光素酶 plus 检测工作液。

注: 建议现配现用, 剩余的工作液当次实验结束后, 直接舍弃, 不要留存。

三、操作方法

1、细胞检测

(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: 建议使用白色或黑色不透光的细胞培养板, 减少孔间的信号干扰。

(2) Renilla 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 Renilla 萤光素酶 plus 检测工作液, 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 100μL 培养液, 相应加入 100μL 检测工作液。

② 孵育 5min 后于化学发光仪或多功能酶标仪中检测 Renilla Luciferase 报告基因活性。

注: 为得到最佳检测结果, 请在加入检测工作液后 15min 内完成检测。

2、细胞裂解后的样品检测

(1) 裂解细胞

① 贴壁细胞: 吸去细胞培养基, 用 PBS 缓慢轻柔地洗涤一次, 洗去残留的培养基, 然后将液体全部吸弃。

悬浮细胞: 离心去上清后, 用 PBS 清洗细胞一次, 再次离心收集细胞沉淀。

② 配制 1×细胞裂解工作液。每次使用前以 1:4 比例将萤光素酶报告基因细胞裂解液 (5×) 与 ddH₂O 充分混合 (例如将 1mL 萤光素酶报告基因细胞裂解液 (5×) 加入 4mL ddH₂O 充分混合), 置于冰上备用。

③ 按照下表推荐加入适量的 1×细胞裂解工作液 (萤光素酶报告基因细胞裂解液 (通用型), 货号 F900604), 室温下静置或振动摇晃裂解 15min, 吹打并吸取全部细胞裂解产物至 1.5mL 离心管中, 12000g 离心 5-10min, 取上清用于后续检测。

Cell Culture Plate	6-well	12-well	24-well	48-well	96-well
1×Cell Lysis Buffer	500μL	200μL	100μL	50μL	20μL

注：若萤光素酶的表达水平过低，可适当减少细胞裂解液用量以提高蛋白浓度，但需保证裂解液体积可以覆盖细胞孔板底面，否则会影响裂解效果。

(2) Renilla Luciferase 反应检测

① 小心吸取 20 μ L 细胞裂解上清依次加入至检测管或酶标板中，再加入 100 μ L 平衡至室温的含有底物的 Renilla 萤光素酶 plus 检测工作液。② 孵育 5min 后于化学发光仪或多功能酶标仪中检测 Renilla Luciferase 报告基因活性。

注：如果对于数据的稳定性要求不太高，可以在混匀后立即进行化学发光检测。

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或黑色细胞培养板。
- 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、如需同时检测多个细胞培养板，请尽量确保每个细胞板加入检测溶液后孵育时间一致，再进行数据读取，以此获得最佳的检测结果。
- 5、Renilla 萤光素酶 plus 检测底物（100 $\times$ ）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，混匀后即可使用。
- 6、海肾萤光素酶催化的生物发光的最强波长为 480nm。