（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-F071

产品规格：48T/96T

检测仪器：化学发光检测仪

Elabscience®双荧光素酶报告基因化学发光法测试盒（闪光型）

Dual Luciferase Reporter Gene Luminescence Assay Kit (Flash Type)

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测低表达样本体系中萤火虫荧光素酶报告基因与海肾荧光素酶报告基因的表达水平。

检测原理

双荧光素酶报告基因(Dual luciferase reporter gene)是利用荧光素酶(Luciferin)对荧光素底物产生的发光反应进行检测，该检测系统包括萤火虫荧光素酶报告基因和海肾荧光素酶报告基因两部分，海肾荧光素酶作为转染的内参，可以归一化实验数据。

本试剂盒的检测原理为在氧气、ATP 和镁离子同时存在的条件下，萤火虫荧光素与腔肠素先后被样本中的萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶催化氧化生成不同的荧光信号，通过化学发光仪器就可检测样本中萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶的表达量。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 1 (Size 1)(48 T)	规格 2 (Size 2)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	裂解液 (Lysis Buffer)	12.5 mL × 1 瓶	25 mL × 1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	萤火虫荧光素酶缓冲液 (Firefly Luciferase Buffer Solution)	7 mL × 1 瓶	14 mL × 1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂三 (Reagent 3)	萤火虫荧光素酶底物 (Firefly Luciferase Substrate)	粉剂 ×2 支	粉剂 ×4 支	-20°C 避光保存 6 个月
试剂四 (Reagent 4)	海肾荧光素酶缓冲液 (Renilla Luciferase Buffer Solution)	6 mL × 1 瓶	12 mL × 1 瓶	-20°C 保存 6 个月
试剂五 (Reagent 5)	海肾荧光素酶底物 (Renilla Luciferase Substrate)	0.12 mL × 1 支	0.24 mL × 1 支	-20°C 避光保存 6 个月
	96 孔黑色透底酶标板	96 孔×1 块		无要求
	96 孔覆膜	2 张		
	样本位置标记表	1 张		

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：化学发光检测仪或多功能酶标仪（具有检测化学发光的功能）

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至25°C。

② 试剂三工作液的配制：

取一支试剂三，加入3 mL试剂二溶解，未用完的溶液，分装后-20°C避光可保存一个月。

③ 试剂五工作液的配制：

按试剂五：试剂四的体积比=1 : 99的比例配制试剂五工作液，现配现用，按照每个样本孔100 μL试剂五工作液的需求量配制，当天使用有效。

样本准备

样本处理

① 接种细胞后，可按照以下组别进行细胞组设计：

空白组：未转染细胞。

对照组：质粒转染样本，未加药物刺激。

实验组：质粒转染样本后，并根据实验设计需要，加入药物刺激。

② 细胞裂解：

贴壁细胞：吸除培养基，参考下表加入试剂一（裂解液）充分裂解（15-30 min）。4°C，15000 × g离心5 min，收集上清，置于冰上待测（如细胞样本无明显浑浊，离心可省略）。

悬浮细胞：4°C，500 × g离心5 min，弃去上清，参考下表加入试剂一（裂解液）充分裂解（15-30 min）。4°C，15000 × g离心5 min，收集上清，置于冰上待测（如细胞样本无明显上清，离心可省略）。

	6孔板	12孔板	24孔板	48孔板	96孔板
试剂一(μL)	500	300	200	150	100

实验关键点

① 避免试剂三工作液反复冻融，可分装后-20°C避光保存。

② 一次性检测孔需控制在5个以下。

操作步骤

① 测定孔：取 20 μL 待测样本，加入到相应的酶标孔中，加入 100 μL 试剂三工作液，立即在化学发光仪上检测发光值 F_1。

② 测定孔：向步骤①中测定孔加入 100 μL 试剂五工作液，立即在化学发光仪上检测发光值 F_2。

操作表

	测定孔
待测样本(μL)	20
试剂三工作液(μL)	100
立即在化学发光检测仪上检测发光值 F_1	
试剂五工作液(μL)	100
立即在化学发光检测仪上检测发光值 F_2	

结果计算

相对荧光单位(Relative Light Units, RLUs)计算公式:

$$RLUs = \frac{\Delta F_1}{\Delta F_2}$$

注解:

ΔF_1：F-Luc发光值-空白组F-Luc发光值

ΔF_2：R-Luc发光值-空白组R-Luc发光值

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。