



## ABP双荧光素酶检测试剂盒

货号: FP308, FP309

表 1. 试剂盒组分和储存条件

材料	体积	浓度	储存条件	有效期	
<b>ABP双荧光素酶检测试剂盒 (货号 FP308)</b>					
双重萤火虫荧光素酶底物 (组分 A)	100 $\mu$ L	100X	-20 $^{\circ}$ C, 避光	按照推荐的储存条件保存有效期为6个月, 请注意避免反复冻融。	
双重萤火虫荧光素酶缓冲液 (组分 B)	10 mL	1X			
双重海肾荧光素酶底物 (组分 A)	100 $\mu$ L	100X			
双重海肾荧光素酶缓冲液 (组分 B)	10 mL	1X			
<b>ABP双荧光素酶检测试剂盒 (货号 FP309)</b>					
双重萤火虫荧光素酶底物 (组分 A)	500 $\mu$ L	100X	-20 $^{\circ}$ C, 避光		
双重萤火虫荧光素酶缓冲液 (组分 B)	50 mL	1X			
双重海肾荧光素酶底物 (组分 A)	500 $\mu$ L	100X			
双重海肾荧光素酶缓冲液 (组分 B)	50 mL	1X			

### 产品介绍

通过检测报告基因的表达来研究真核基因表达调控是在生物技术和制药工业中常用的方法。传统的方法是采用简易和灵敏度高的萤火虫荧光素酶作为参照样品检测遗传基因的表达上调。然而, 单一萤火虫荧光素酶报告基因检测很难测定基因的下调, 因为在识别细胞死亡和细胞表达下调是很困难的。标准条件下表达一个实验的报告基因和一个参照报告基因能帮助区分特异性和非特异性的细胞反应。

萤火虫和海肾荧光素酶是目前广泛使用的双报告基因, 因为两种酶的测定简单, 快速, 灵敏度高。萤火虫和海肾荧光素酶的分子量分别是61 kDa 和 36 kDa, 都是单体, 不需要转录后的加工, 所以它们能在转录后立即发挥其功能。

ABP双荧光素酶检测试剂盒提供了一种简单可靠的用于同时测定单个样品中萤火虫和海肾荧光素酶的活性, 适用于含有萤火虫和海肾荧光素酶两种报告基因的哺乳动物细胞在96- 或384- 孔板上直接进行高通量分析 (图 1)。ABP双荧光素酶检测试剂可直接加入到细胞生长的培养基中, 无需清洗和预处理。其中萤火虫检测试剂可诱导细胞裂解并含萤火虫荧光素酶的底物, 半衰期在1 h左右。加入海肾检测试剂可有效淬灭萤火虫发光信号并诱发海肾荧光素酶的反应, 信号至少可持续2小时。ABP双荧光素酶检测试剂盒作为高通量分析的首选试剂, 具有以下特征:

- 简单: 可在培养基中直接裂解细胞并测定荧光素酶活性, 无需清洗。
- 信号稳定: 发光信号稳定, 半衰期在1h左右。
- 适应性强: 试剂盒适用于多种真核细胞 (包括贴壁的或悬浮的)。
- 高通量: "add-and-read"模式适用于高通量检测。

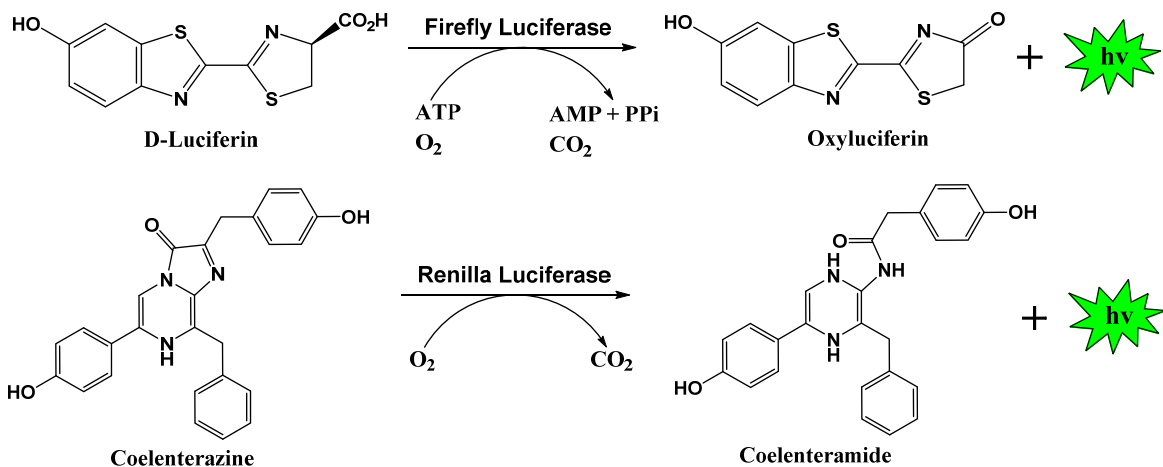


图 1. 萤火虫和海肾荧光素酶催化的双生物发光反应。

### 注意事项

1. 用于细胞培养的多孔板（96- 或384- 孔板）必须与用于检测化学发光的仪器兼容。
2. 荧光素酶检测对温度敏感，确保试剂温度在检测前调整到室温。
3. 检测条件会影响发光信号，所以样品只有在同一时间内在相同条件下获得的检测结果才能相比较。
4. 为了在低信号时获得较好的线性关系，应该从所有读数中减去背景信号。

### 操作程序

1. 将冰冻的双重萤火虫荧光素酶底物 (组分 A)，双重萤火虫荧光素酶 Buffer (组分 B)，双重海肾荧光素酶底物 (组分C)和双重萤火虫荧光素酶 Buffer (组分D) 放在室温的水浴中解冻，待融化后混匀。
2. 准备双重萤火虫荧光素酶检测试剂，组分A和组分B按照1:100比例进行混合，颠倒几次混匀。  
例如: 如果你想做100次检测，加 100  $\mu$ L 组分A 到 10 mL 组分B中。
3. 准备双重海肾荧光素酶检测试剂，组分C和组分D按照1:100比例进行混合，颠倒几次混匀。  
例如: 如果你想做100次检测，加 100  $\mu$ L 组分C 到 10 mL 组分D中。
4. 从恒温培养箱中取出包含哺乳动物细胞的多孔板，冷却到室温。
5. 向每孔的培养基中添加等体积的双重萤火虫荧光素酶检测试剂，混合均匀。对于96孔板，一般是将75 $\mu$ L 检测试剂加入到75  $\mu$ L培养基中。对于384孔板，一般是将20  $\mu$ L 检测试剂加入到20  $\mu$ L培养基中。
6. 将培养板置于摇床或振荡器上轻柔震荡或转动至少10 分钟。
7. 用化学发光检测仪检测萤火虫发光信号(参照仪器操作手册)。请在加入双重萤火虫荧光素酶测定试剂后1h内完成发光信号的测定。
8. 向每孔的培养基中添加等体积的海肾荧光素酶检测试剂，混合均匀。对于96孔板，一般是将75  $\mu$ L 检测试剂加入到75  $\mu$ L培养基中。对于384孔板，一般是将20  $\mu$ L 检测试剂加入到20  $\mu$ L培养基中。
9. 等待5分钟，测定发光信号。海肾发光信号的检测顺序应该与萤火虫发光信号检测顺序相同 (步骤 7)。请在加入双重海肾荧光素酶测定试剂后1h内完成发光信号的测定。
10. 计算实验报告基因的发光信号和参照报告基因的发光信号的比例。