

Neo-Glo® 双荧光素酶检测试剂盒

Neo-Glo® Dual Luciferase Assay Kit



产品规格

产品货号	组分			可检测 96 孔板孔数	可检测 384 孔板孔数
	R1 试剂	R2 缓冲液	R2 底物		
LAS104.10	10 ml	10 ml	100 μ l	200 wells	1,000 wells
LAS104.100	100 ml	100 ml	1 ml	2,000 wells	10,000 wells
LAS104.500	500 ml (5 $\times$ 100 ml)	500 ml (5 $\times$ 100 ml)	5 ml (5 $\times$ 1 ml)	10,000 wells	50,000 wells
LAS104.1000	1000 ml (10 $\times$ 100 ml)	1000 ml (10 $\times$ 100 ml)	10 ml (10 $\times$ 1 ml)	20,000 wells	100,000 wells

保存条件

-20°C或以下避光储存。

产品描述

双荧光素酶报告基因系统在细胞代谢、信号转导、转录因子调控、基因功能分析以及药物筛选等多个领域中有广泛的应用。在双荧光素酶报告系统中，一个荧光素酶作为实验报告基因，用于指示靶标的活性；另一个荧光素酶则作为对照报告基因，用于标准化实验报告基因的活性，从而最大限度地减少因转染效率、细胞数量、裂解效果、加样体积等实验因素导致的误差。**Neo-Glo® 双荧光素酶检测试剂盒**具有高灵敏度、高稳定性、重复性好以及操作简便等优点。在检测过程中，在同一个样本中首先加入 R1 试剂检测萤火虫荧光素酶的活性，随后立即加入 R2 试剂，在淬灭萤火虫荧光素酶的同时检测海肾荧光素酶活性，可在数十秒内完成单个样本的分析。分析数据时，通过计算实验荧光素酶与对照荧光素酶的相对荧光强度比值，对实验结果进行标准化处理，从而确保数据的准确性和可比性。

实验步骤

1. 在96孔或384孔细胞培养板（建议使用白板）铺合适密度的待检测细胞，根据实验需要转染表达萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶的载体，或直接使用可表达该双荧光素酶的稳定细胞株。
 2. 根据实验需求对细胞进行相关处理，并继续培养合适的时间。
 3. 取出待测细胞培养板，平衡至室温（22-25°C）。
- Note:** 荧光素酶反应对温度变化敏感。检测试剂和细胞培养板需要平衡至室温（22°C-25°C），检测过程温度保持恒定（ $\pm 1^\circ\text{C}$ ）。
4. 取出检测试剂，平衡至室温，R1 试剂是即用型试剂。R2 底物为 100 $\times$ 浓缩液，使用前用 R2 缓冲液配制成 1 $\times$ 工作液。请注意避光操作。
- Note:** R2 工作液请根据需要现配现用。初次使用后请将 R1 试剂和 R2 底物分装后保存于-20°C或更低温度。不同批次的试剂不建议混合使用。
5. 加入与细胞培养液等体积的 R1 试剂，例如 50 μ l R1 试剂加入到含有 50 μ l 细胞培养液的 96 孔细胞培养板中。
- Note:** 细胞培养液、R1 和 R2 试剂的体积比为 1:1:1。非经严格验证，不建议改变检测试剂比例。
6. 振板 2min，放置避光处继续裂解 5min。
 7. 在荧光读板上读取荧光信号。此为萤火虫荧光素酶活性读数。保存数据。

Note: 建议在加入 R1 试剂 1 小时内完成读板以获得最佳结果。

8. 向上述细胞培养板孔中加入与 R1 试剂等体积的 1×R2 工作液。

9. 振板 3min 充分混匀，放置避光处继续裂解 10min。

10. 在荧光读板仪上读取荧光信号。此为海肾荧光素酶活性读数。保存数据。

Note: 建议在加入 R2 试剂 1 小时内完成读板以获得最佳结果。

11. 进行数据处理分析。

Note: 实验板间的数据比较需要在所有实验板设立适当对照样品作为板间内参。对每块板的实验数据用板间内参归一 (Normalization) 后再进行比较，并且每块实验板加入 R1 和 R2 试剂后的读数时间应保持一致，以保证实验板间同等的信号衰变速率。

注意事项

试验中请穿着试验服并带手套做好防护工作。请按实验室安全操作规范进行实验。

本试剂**仅供科研使用**，请勿用于临床诊断或其他治疗用途。

V02/25