

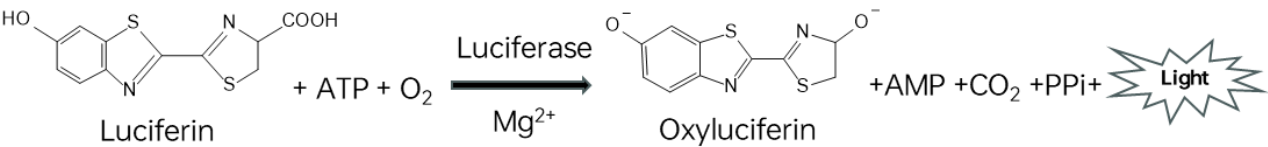
Dual CytoLumi-Glo™ One Step Luciferase Assay System

Cat# CR0001

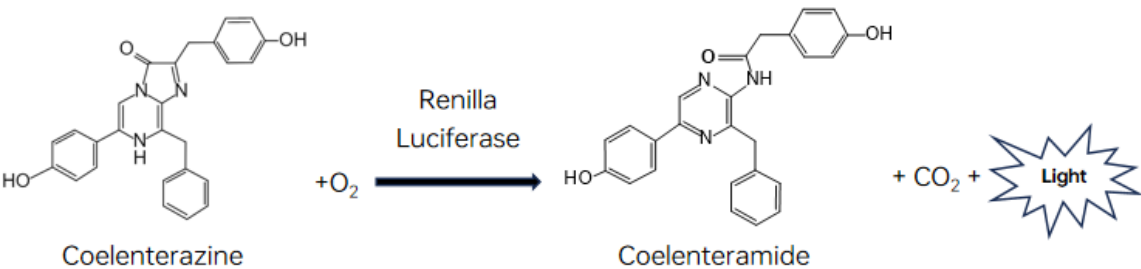
产品概述

Dual CytoLumi-Glo™ One Step Luciferase Assay System 是一款辉光型双荧光素酶报告基因检测试剂盒。本品内含有高纯度萤火虫荧光素酶底物和海肾荧光素酶底物（腔肠素 h），可同时用于萤火虫荧光素酶报告基因和海肾荧光素酶内参基因的检测。

其中萤火虫荧光素酶是从甲虫（Photinus pyralis）中分离得到，分子量为 61kDa；在 ATP、O₂、Mg²⁺存在的条件下，能够催化萤光素（luciferin）氧化成 oxyluciferin，在氧化的过程中会发出波长为 560 nm 左右的生物萤光。



海肾荧光素酶（Renilla Luciferase）则是从海肾（Renilla reniformis）中分离，分子量为 36kDa。仅需要 O₂ 的存在下，即可催化腔肠素（coelenterazine）氧化成 coelenteramide，从而发出 480 nm 左右的生物萤光。



本试剂采用预混液形式，底物溶液中含有细胞裂解成分和萤光素（luciferin）或腔肠素。在同一份样品中，先加入萤火虫荧光素酶预混液，检测荧光信号；随后加入终止溶液和海肾荧光素酶预混液，淬灭萤火虫荧光素酶发光信号同时检测海肾荧光素酶发光信号。海肾萤光素酶作为内参基因，能够消除因孔间细胞数量不同、加样误差、转染效率不同等造成的影响，从而获得更为准确的结果。

产品/组分信息

组分编号	组分名称	CR0001-1ML	CR0001-10ML
CR0001-1ML/10ML-1	Dual CytoLumi-Glo™ Firefly Luciferase Reaction Buffer	1 mL	10 mL
CR0001-1ML/10ML-2	Dual CytoLumi-Glo™ Renilla Substrate	10 μL	100 μL
CR0001-1ML/10ML-3	Dual CytoLumi-Glo™ Stop & Reaction Buffer	1 mL	10 mL

储存方式

-85~-65℃避光保存，至少一年效期；-20℃避光保存，推荐 3-6 个月内使用。

使用说明

操作前注意事项

1. 酶促反应对温度较为敏感，因此加样检测前需将细胞和底物预混液平衡至室温后(20-25℃)使用；
2. 如果每次实验用量较少，建议分装保存，避免反复冻融和试剂污染；
3. 因为不同仪器灵敏度、分辨率不同，RLU 会存在差异，因此同一样本在不同仪器上的数值不可横向比较；
4. 本产品仅供科学研究使用，不得用于临床医学诊断及非合理用途；
5. 为了您的安全与健康，请穿实验服并戴一次性手套进行实验操作。

实验前准备（自备）

单/多通道移液器；不透光细胞培养白色板/黑色板；化学发光仪或带化学发光检测模块的酶标仪。

操作步骤

1. 试剂准备

Firefly luciferase 检测试剂: Dual CytoLumi-Glo™ Firefly Luciferase Reaction Buffer 中已含有萤火虫荧光素酶，第一次使用时按需分装好，建议-85~-65℃长期保存，-20℃避光保存推荐 3-6 个月内使用。

Renilla Luciferase 检测试剂: 根据实际使用量，按照 100 : 1 的比例将适量的 Dual CytoLumi-Glo™ Stop & Reaction Buffer 和 Dual CytoLumi-Glo™ Renilla Substrate 混匀，现配现用。

2. Firefly luciferase 活性检测:

提前将细胞从培养箱中拿出放置 10~15 min，平衡温度至室温。随后向细胞培养孔中加入与待测细胞培养液等体积，并平衡温度至室温的 Dual CytoLumi-Glo™ Firefly Luciferase Reaction Buffer。以 96 孔板为例：向 75 μL/孔的细胞培养物中加入 75 μL/孔的报告基因检测试剂。迅速混匀后静置 10 min，随后于荧光检测仪(luminometer)或酶标仪中检测 Firefly luciferase 报告基因活性。

3. Renilla Luciferase 活性检测:

向细胞培养孔中加入与待测细胞培养液等体积，并平衡温度至室温的 Renilla Luciferase 检测试剂，以 96 孔板为例：向 75μL/孔的细胞培养物中加入 75 μL/孔的检测试剂，迅速混匀后静置 10 min，随后于荧光检测仪(luminometer)或酶标仪中检测 Renilla luciferase 报告基因活性。

4. 结果判断

通常实验中需要同时设置实验组、对照组、空白对照组。根据实验目的不同，不同组别的设置也会不同。以实验化合物处理后，测试 Firefly luciferase 和 Renilla luciferase 的表达量为例：

a. 空白对照组（未经过实验化合物处理）

A1: 未转染的细胞+Firefly luciferase 检测试剂；

A2: 未转染的细胞+Firefly luciferase 检测试剂+Renilla luciferase 检测试剂；

【注】：空白对照组的样品量必须与实验组的样品量相同，其他加入的试剂以及体积也需要与实验样品相同。

b. 实验组（经过实验化合物处理）

B1: 转染的细胞+Firefly luciferase 检测试剂；

B2: 转染的细胞+Firefly luciferase 检测试剂+Renilla luciferase 检测试剂；

c. 对照组（未经过实验化合物处理）

C1: 转染的细胞+Firefly luciferase 检测试剂；

C2: 转染的细胞+Firefly luciferase 检测试剂+Renilla luciferase 检测试剂；

计算公式：

$$\text{表达倍数} = \frac{(B1-A1)/(B2-A2)}{(C1-A1)/(C2-A2)}$$

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

CYTOCH