

Bac-Lumi™细菌萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|-----------------------------|-------|
| RG039S | Bac-Lumi™细菌萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒 | 100次 |
| RG039M | Bac-Lumi™细菌萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒 | 1000次 |

产品简介:

- 碧云天生产的Bac-Lumi™细菌萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒(Bac-Lumi™ Bacterial Firefly Luciferase Reporter Gene Assay Kit, Bac-Lumi™ Bacterial Firefly Luciferase Assay Kit), 是一种无需收集和裂解细菌, 可以在96孔板等多孔板中通过化学发光法直接测定细菌内萤火虫萤光素酶(firefly luciferase)活性的超高灵敏度、高信号稳定性的一步法检测试剂盒。
- 本产品检测灵敏度高。**用于LB培养的表达式萤火虫萤光素酶的大肠杆菌进行检测, 100微升空白LB培养基的信号值为 5×10^3 左右, 100微升IPTG诱导表达式萤火虫萤光素酶3小时的大肠杆菌菌液的信号值实测可达约 4.5×10^9 , 用LB培养基1:1稀释的菌液信号值为 2.2×10^9 , 信号值高达空白LB培养基信号值的约 4.5×10^5 倍, 具有超高的检测灵敏度和发光强度(参考图1A)。实测效果可能会因表达菌株的种类、萤火虫萤光素酶突变体的种类、检测环境等的不同有所差异。

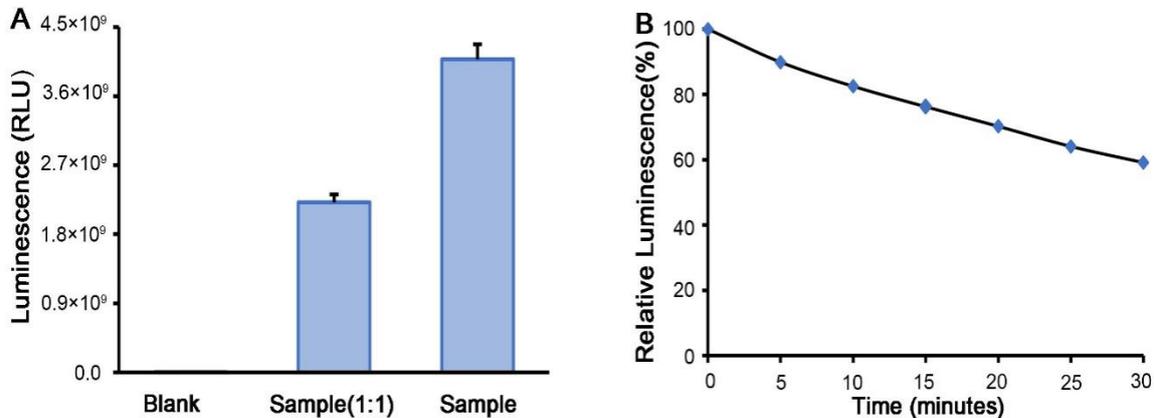


图1. Bac-Lumi™细菌萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒对表达式萤火虫萤光素酶的大肠杆菌菌液的检测效果。挑取表达式萤火虫萤光素酶的单克隆细菌于5ml LB中, 37°C培养4小时, 加入IPTG, 37°C诱导3小时, 取菌液进行萤火虫萤光素酶活性检测。图中Sample(1:1)为用LB培养基1:1稀释的菌液。图A为菌液的化学发光强度的检测效果图, 图B为菌液的化学发光稳定性的检测效果图。实际读数会因突变体、所用菌株、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 本试剂盒操作便捷、读数稳定、10分钟内就可以完成检测。**本产品的使用简单快捷, 无需收集菌体, 也无需更换或去除培养液, 只需把试剂盒提供的Bac-Lumi™细菌萤火虫萤光素酶检测试剂与培养的菌液等体积混合, 反应5分钟后即可进行化学发光检测。并且产生的化学发光信号相对比较稳定, 在反应开始后的30分钟内, 信号下降通常不超过40%, 其信号半衰期随菌株、突变体和培养基等的不同而有所差异(参考图1B)。使用可以测定96孔板的化学发光的多功能酶标仪通常在2分钟内就可以完成一块96孔板的检测。另外, 本产品也可以用于裂解保存的细菌样品中萤火虫萤光素酶活性的检测[1]。
- 本产品稳定性好。**Bac-Lumi™细菌萤火虫萤光素酶检测试剂稳定性非常好, 反复冻融5次对检测效果无明显影响, 反复冻融10次检测效果下降不超过10%。本产品4°C条件下, 保存3天检测效果下降不超过10%, 保存7天检测效果下降不超过30%。室温保存1天可保留70%以上的检测效果, 室温保存3天可保留50%以上的检测效果, 37°C保存1天可保留50%以上的检测效果。本产品即使仅保留约50%的检测效果, 仍可以满足各种常规检测。
- 本产品使用灵活便捷。**本产品不仅适合少量样品的检测, 也非常适合大量样品的高通量检测(high-throughput screening)。本产品不仅可以与培养的菌液等体积加入到96孔板中进行直接检测, 也可以用于裂解并收集保存的细菌样品的萤火虫萤光素酶活性的检测。
- 萤火虫萤光素酶(firefly luciferase)是一种分子量约为61kD的蛋白, 在ATP、镁离子和氧气存在的条件下, 可以催化luciferin氧化成oxyluciferin, 在luciferin氧化的过程中, 会发出波长为560nm左右的生物荧光(bioluminescence)。生物荧光可以通过化学发光仪(luminometer)或液闪测定仪进行测定。通过萤光素和萤光素酶这一生物发光体系, 可以非常灵敏、高效地检测萤火虫萤光素酶的表达[2]。通常把感兴趣基因的转录调控元件或5'启动子区克隆在luciferase的上游, 或把3'-UTR区克隆在luciferase的下游等, 构建成报告基因(reporter gene)质粒。然后转染细胞或细菌, 用适当药物等处理细胞或细菌后裂解细胞或细菌, 测定萤光素酶活性。通过萤光素酶活性的高低来判断药物等处理对目的基因的转录调控作用[3]。本试剂盒的检测原理参考图2。

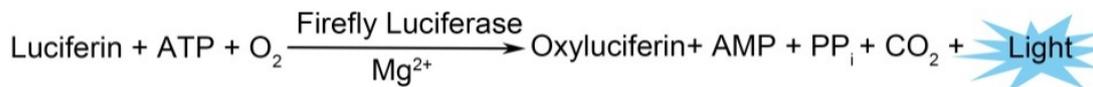


图2. 萤火虫萤光素酶的检测原理图。

- 萤光素、萤光素酶、萤火虫萤光素酶和海肾萤光素酶也经常被称为荧光素、荧光素酶、萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶。
- 对于96孔板，推荐使用100μl菌液和100μl的检测试剂，总体积为200μl，此时本试剂盒每10ml可以进行100次检测。对于384孔板，推荐使用25μl菌液和25μl的检测试剂，总体积为50μl，此时本试剂盒每10ml可以进行400次检测。也可以用其它体积的试剂进行检测，但菌液和检测试剂体积的比例须为1:1。虽然我们有检测数据显示适当减少检测试剂的用量很可能仍然会得到较好的检测结果，但对于细菌数量偏多、细菌数量特别少或者重复性要求比较高的情况，建议按照推荐用量进行检测。

包装清单：

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|------------------------|-------|
| RG039S | Bac-Lumi™细菌萤火虫萤光素酶检测试剂 | 10ml |
| RG039M | Bac-Lumi™细菌萤火虫萤光素酶检测试剂 | 100ml |
| — | 说明书 | 1份 |

保存条件：

-80°C避光保存，至少一年有效；-20°C避光保存，推荐3-6个月内使用。

注意事项：

- 本产品于-20°C保存其检测效果会逐渐下降，保存半年后其发光效果会降低约50%。因此，本产品如果保存于-20°C，推荐在3-6个月内使用。
- 由于萤光素酶的活性对温度比较敏感，所以反应前细菌菌液和检测试剂均需达到室温后再进行测定。可将检测试剂在室温或不高于25°C的水浴中融解并混匀后使用。
- 尽管经测试本试剂反复冻融5次对于检测效果无显著影响，为保证本产品的稳定性、取得良好的使用效果，第一次解冻后可以采取适当分装后避光保存的方法，以避免反复冻融和长时间暴露于室温。反复冻融过程中，可能会导致检测试剂中出现少量沉淀，此时宜平衡至室温，并尽量溶解。如仍有残留的不溶物，可以离心去除后使用，经测试不会影响后续的检测效果。
- 请使用适合于细菌培养的白色或黑色的96孔板或384孔板。如果使用普通透明的96孔板或384孔板，相邻孔之间会产生相互干扰。推荐使用碧云天的BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(FCP966)或BeyoGold™全白96孔细胞培养板(FCP968)。
- 待测药物的溶剂含量较高时可能会干扰萤光素酶反应，从而影响化学发光信号。可以通过设置含有溶剂的细菌培养液对照孔排除溶剂的干扰。经测试，最终反应体系中DMSO含量在2%以内不会对反应产生影响。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 表达萤火虫萤光素酶菌液的准备：

使用适合进行化学发光检测的白色或黑色96孔板，每孔加入100μl表达萤火虫萤光素酶的菌液(如使用384孔板，每孔接种25μl菌液，具体用量视不同类型的384孔板而定)，同时设置不含萤火虫萤光素酶的细菌培养液孔作为阴性对照。

2. 检测试剂的准备：

融解冻存的Bac-Lumi™细菌萤火虫萤光素酶检测试剂，按照96孔板每孔100μl (384孔板每孔25μl)的量，取适量Bac-Lumi™细菌萤火虫萤光素酶检测试剂，平衡至室温。

3. 萤光素酶检测：

- 将待检测的多孔板充分平衡至室温。
- 96孔板每孔加入100μl Bac-Lumi™细菌萤火虫萤光素酶检测试剂(384孔板每孔25μl)。
- 使用有震动混匀功能的酶标仪或多孔板震荡混合仪等设备振荡混匀，室温(约25°C)孵育5分钟，使发光信号趋于稳定。
- 使用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪进行化学发光检测。请根据仪器要求设置相应的参数，每个孔的检测时间一般为0.25-1秒或更长时间，具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。

常见问题：

1. Luminometer和荧光分光光度计有何不同？

荧光分光光度计检测的样品本身不能发光，样品需要由特定波长的激发光激发，然后才能产生荧光并被荧光分光光度计检测。Luminometer检测的样品本身可以发光，不需要激发光进行激发。也就是说luminometer是检测化学发光(萤光)的仪器。有些型号的荧光分光光度计也具有luminometer的功能，即也可以检测化学发光。您所使用的荧光分光光度计能否用于化学发光的测定请仔细阅读该仪器的说明书。

2. 可以进行萤光素酶报告基因检测的仪器是否就可以用于本试剂盒的检测？

是。萤光素酶报告基因的检测原理和本试剂盒的原理相同，可以用相同的仪器测定。

参考文献:

1. Waidmann MS, Bleichrodt FS, Laslo T, Riedel CU. Bioeng Bugs. 2011. 2(1):8-16.
2. J R de Wet, K V Wood, M DeLuca, D R Helinski, and S Subramani. Mol Cell Biol. 1987. 7:725-37.
3. E Schenborn, D Groskreutz. Mol Biotechnol. 1999. 13:29-44.

相关产品:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|---------------|---------------------------------|---------------|
| RG039S | 细菌萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒 | 100次 |
| RG039M | 细菌萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒 | 1000次 |
| FCP966-80pcs | BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装) | 80个/盒 |
| FCP966-320pcs | BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装) | 80个/盒, 320个/箱 |
| FCP968-80pcs | BeyoGold™全白96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装) | 80个/盒 |
| FCP968-320pcs | BeyoGold™全白96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装) | 80个/盒, 320个/箱 |

Version 2022.07.23