

Dual-Glo® Luciferase Assay System

Dual-Glo® 萤光素酶检测系统快速操作指南

适用产品目录号: **E2920, E2940, E2980**



注意: 这是快速操作指南, 仅供实验参考!

欲了解此产品技术细节, 请参阅完整版技术手册#TM058, 获取网址: www.promega.com/protocols

Dual-Glo® 萤光素酶检测系统是为在哺乳动物细胞培养基中使用而设计的, 尤其适合含 1-10% 血清的下述培养基: RPMI 1640, DMEM, MEM α 和 F12。

试剂准备

1. 制备 Dual-Glo® Luciferase Reagent: 将整瓶 Dual-Glo® Luciferase Buffer 内的溶液全部转移到整瓶冻干粉底物 Dual-Glo® Luciferase Substrate 中, 颠倒混合直到底物完全溶解。
2. 制备 Dual-Glo® Stop & Glo Reagent: 首先计算实验所需要的 Dual-Glo® Stop & Glo® Reagent 的用量, 然后在一个新的容器中, 将 Dual-Glo® Stop & Glo Substrate 以 1:100 稀释度稀释到 Dual-Glo® Stop & Glo® Buffer 中, 以得到所需体积的 Dual-Glo® Stop & Glo® Reagent。

注意:

1. 检测试剂在室温放置几个小时都是稳定的。可以将 Dual-Glo® Luciferase Reagent 冻起来以防止活性损失, 但要注意融化时温度**不要**超过 25°C。可在室温水浴融解试剂, 融化后混匀。
2. Dual-Glo® Luciferase Reagent 的稳定性: 液态试剂在室温放置 8 小时或在 4°C 保存 48 小时后会丧失约 10% 的萤火虫萤光信号 (以相对光单位 RLU 来计算)。试剂在 -20°C 冻存一周或 -70°C 冻存 6 个月后会丧失约 10% 的萤火虫萤光信号。在 -20°C 储存试剂不要超过一周。
3. 配制后的 Dual-Glo® Stop & Glo® Reagent 的稳定性: 室温放置 8 小时后活性丧失 8.1%; 4°C 保存 24 小时后活性丧失 8.5%。我们推荐始终在使用前现配 Dual-Glo® Stop & Glo® Reagent。
4. 萤火虫和海肾萤光素酶的最适反应温度均为室温 (20-25°C), 因此试剂都应该在使用前平衡到室温。在进行萤光素酶检测前, 培养的细胞也应该平衡到室温。

(转下页)

Dual-Glo[®] Luciferase Assay System

Dual-Glo[®] 萤光素酶检测系统快速操作指南

适用产品目录号: E2920, E2940, E2980



Dual-Glo[®] 萤光素酶检测系统操作步骤

1. 从恒温孵箱中取出培养有哺乳动物细胞的 96- 或 384- 孔板。平板必须和所用的萤光发光仪 (luminometer) 兼容 (如不透光的白板)。为获取最佳结果, 在进行第 2 步前将培养的细胞平衡到室温。

2. 向每孔中加入与孔内培养基体积相等的 Dual-Glo[®] Luciferase Reagent, 混匀。(96 孔板, 将 75 μ l 试剂加入到培养在 75 μ l 培养基的细胞中。384 孔板, 将 20 μ l 试剂加入到培养在 20 μ l 培养基的细胞中。)

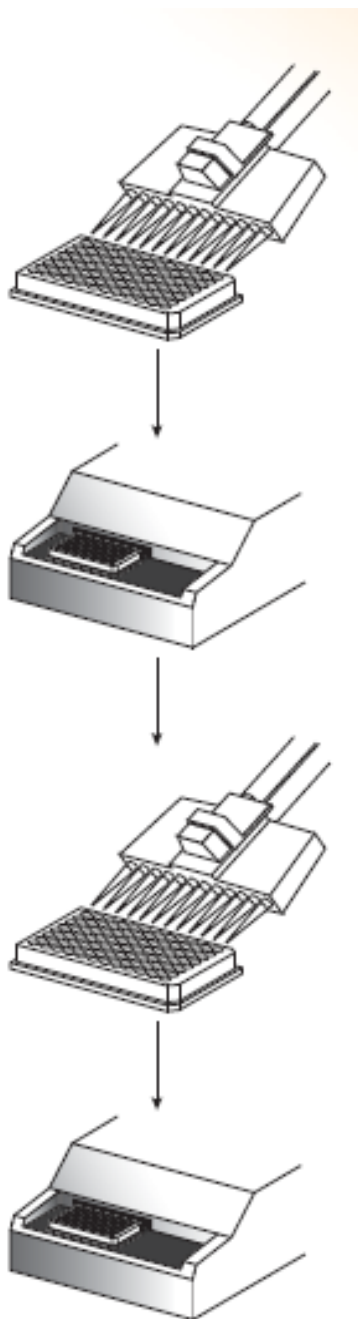
3. 至少等待 10 分钟, 让细胞充分裂解, 然后在萤光发光仪中测量**萤火虫萤光**。

4. 向每孔中加入与初始培养基体积相等的 Dual-Glo[®] Stop & Glo[®] Reagent, 混匀。如第 2 步所述, 加入的试剂体积一般为 96 孔板加 75 μ l, 384 孔板加 20 μ l。

注意: 在加入 Dual-Glo[®] Luciferase Reagent 4 小时内应该加入 Dual-Glo[®] Stop & Glo[®] Reagent。

5. 至少等待 10 分钟, 然后测量**海肾萤光**。海肾萤光的平板测量顺序应该与萤火虫萤光相同。

6. 样品计算和数据分析等信息请参考 Dual-Glo[®] Luciferase Assay System 技术手册 #TM058 的第 6.C 部分。



将 Dual-Glo[®] Luciferase Reagent 加入板中。

20-25°C 孵育 10 分钟至 2 小时。

测量萤火虫萤光。

将 Dual-Glo[®] Stop & Glo[®] Reagent 加入板中。

20-25°C 孵育 10 分钟至 2 小时。

测量海肾萤光。

欲了解更多产品使用信息, 请参阅技术手册

#TM058, 获取网址: www.promega.com/protocols