

NBA-Glo™ Dual Luciferase Assay System

NBA-Glo™ 双荧光素酶检测试剂盒说明书

(L1301, L1302, L1303)

一. 产品描述

双荧光素酶报告基因在哺乳动物细胞功能的研究方面具有广泛的应用，包括细胞代谢，信号通路，转录因子，基因功能，药物筛选等。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，用于指示所研究的靶标；另一个荧光素酶作为对照报告基因，用于标化实验报告基因的活性，从而最大限度地减少因为转染效率、细胞数量、细胞裂解的效果、加样体积等导致的实验误差。

双荧光素酶报告基因检测试剂盒由宁波友波生物科技有限公司所开发，具有灵敏度高、稳定性好、重复性好、使用便捷等优点，综合性能超过国外同类产品。在同一个样品中，先加入 R1 试剂检测萤火虫荧光素酶的活性，然后立即加入 R2 试剂，在淬灭萤火虫荧光素酶的同时检测海肾荧光素酶的活性，整个过程在几十秒内完成一个样品的检测。如果用多孔板进行检测，则所需的实验时间更短。在数据分析时，通过计算实验荧光素酶和对照荧光素酶相对荧光强度的比值来标化实验结果。

二. 产品组成

R1 试剂灌装于 10 ml 或 100 ml 的棕色瓶中，R2 包括 R2 缓冲液及 R2 底物，R2 缓冲液灌装于 10 ml 或 100 ml 的棕色瓶中，R2 底物分装于 2ml 螺旋管中，具体规格如下：

目录号	R1 试剂	R2 缓冲液	R2 底物	可检测的 96-孔板孔数	可检测的 384-孔板孔数
L1301	10 ml	10 ml	100μl	200 wells	1,000 wells
L1302	100 ml	100 ml	1ml	2,000 wells	10,000 wells
L1303	10x100 ml	10x100 ml	10x1ml	2,000 wells	100,000 wells

三. 实验步骤

1. 在 96 孔或 384 孔细胞培养板铺合适密度的待检测细胞，转染合适质粒或带有相关双荧光素酶表达载体的稳定细胞株。建议使用白板。
2. 根据项目需求对细胞进行相关处理，并继续培养合适的时间。
3. 取出检测缓冲液及底物，在室温平衡 20 分钟。
4. 取出待测细胞培养板，在室温平衡 20 分钟。
5. 准备检测试剂，R1 试剂可以直接使用。R2 底物为 100x 浓缩液，使用前用 R2 缓冲液配成 R2 1x 工作液。注意避光。

6. R1 试剂的用量是实际细胞培养液体积的 1/2，加完后轻轻振荡 2 分钟，放置暗处继续裂解 5~8 分钟。
7. 在 luminescence 读板仪上读取荧光信号。此为萤火虫荧光素酶活性读数。保存数据。
8. R2 试剂的用量是原培养孔实际细胞培养液体积的等体积，加完成轻轻振荡 2 分钟。
9. 在 luminescence 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。
10. 进行数据处理分析。

四. 储存条件

储存 NBA-Glo™ 双荧光素酶检测试剂盒于 -20℃ 或以下。

五. 其它注意事项 (供参考)

1. 温度：荧光酶检测除特别注明之外，都是在室温（22-25℃）下进行的。温度对酶反应影响较大。
2. 试剂量：非经严格验证，不建议随意改变反应试剂用量。
3. 读板时间：请按说明书推荐时间进行读板，建议在 10-30 分钟内完成读板以获得最佳结果。
4. 板间内参：如果需要进行板间数据比较，建议在所有反应板均设立两孔未加化合物的阳性对照作为板间内参，用板间内参读数对每块板读数先进行纠正（normalization），纠正后的数据再进行下游处理分析。
5. 反应板：荧光读数高低可能对临近周围孔读数形成明显干扰，主要是荧光信号外溢。必要时可以使用不透明底的白板或黑板进行实验或验证。
6. 试剂混合：不同批次的试剂，已经启用但未使用完而储存试剂及条件差别比较明显的试剂，不建议混合后使用。
7. 分装储存：按照说明书分装储存反应试剂，保证试剂的稳定性。