

双报告基因检测

FuGENE® 6 和 FuGENE® HD 转染试剂

均为非脂体制剂，用于将 DNA 转染到多种细胞系中，高效低毒。该方案无需去除血清或培养基，导入试剂/DNA 复合物后，也无需洗涤或更换培养基。FuGENE® HD 转染试剂不含任何动物来源成分。

FuGENE 转染试剂的特点

- **更具生物相关性：**毒性更低，对生理过程影响更小。
- **操作简单：**无需更换培养基，给细胞培养环境带来的变化更小，与血清兼容。
- **对多种细胞类型均有效：**使用 FuGENE® 6 转染试剂发表的参考文献多达数千篇。关于 FuGENE® HD 转染试剂，网上提供超过 40 种细胞类型的数据库，包括原代细胞和干细胞。
- **与萤光素酶检测试剂盒一起使用更理想：**表达量更高，结果更灵敏。

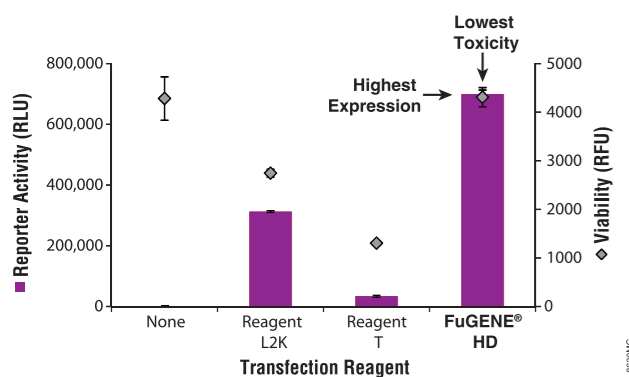
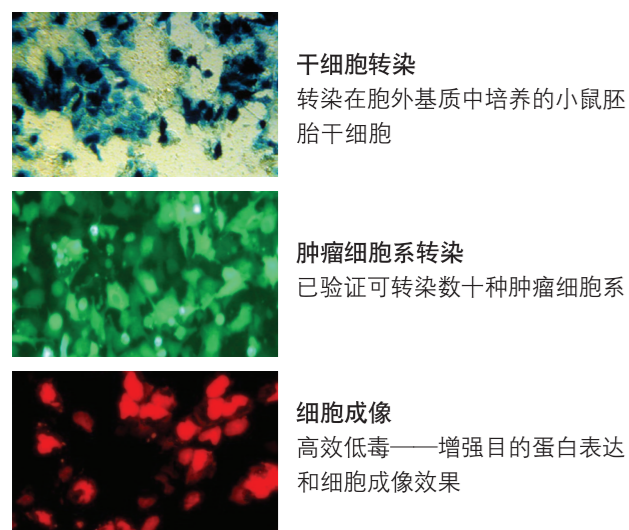


图 6. 不同转染试剂转染 HEK293 细胞效果比较。FuGENE® HD 转染试剂组获得更高的蛋白表达，并对细胞的活性影响更小。



pGL4 萤光素酶报告基因载体

pGL4 萤光素酶报告基因载体是新一代的报告基因载体，专为哺乳动物细胞表达而优化。现在有很多 pGL4 载体可供选择，包括带有萤火虫 *luc2* 基因和海肾 *hRluc* 基因，这些基因的密码子均经过优化，在哺乳动物细胞中的表达效率更高。此外，报告基因和载体骨架，包括选择性标志物，均经过工程改造，减少了转录因子结合有序列的数量，降低了背景，并减少了异常转录的风险。

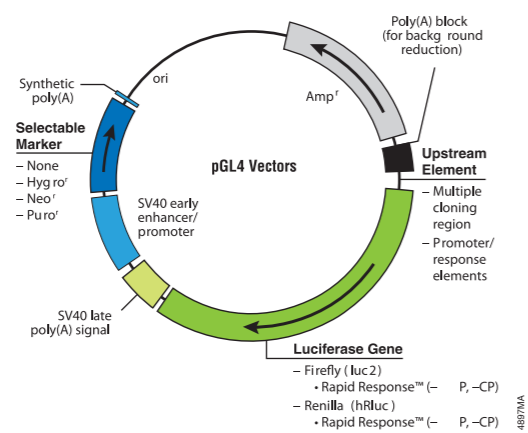


图 7. pGL4 载体图，展示其多种特性。

pGL4 萤光素酶报告基因载体的优点：

- **提高了报告基因的表达：**为哺乳动物细胞表达优化了合成基因的密码子。
- **降低了背景，减少了假象表达的风险：**去除了潜在的 DNA 调控元件和转录因子结合序列。
- **提高了反应的实时性：**使用去稳定的萤光素酶基因使得 Rapid Response™ 技术（快速反应技术）成为可能。
- **可灵活选择检测方法：**既可选择合成的 *luc2* 报告基因，又可选择 *hRluc* 报告基因。
- **可轻松实现从瞬时转染到稳定转染细胞系：**可选用哺乳动物细胞的选择性标志物。
- **轻松实现从一个载体到另一个载体的转移：**共有的多克隆位点和独特的 Sfi I 转移策略。

订购信息

欲知其它规格和检测试剂盒，请访问 www.promega.com 了解最新产品。

产品	规格	目录号
Dual-Glo™ Luciferase Assay System	10ml	E2920
	100ml	E2940
	10 x 100ml	E2980
Dual-Luciferase® Reporter Assay System	100 assays	E1910
Dual-Luciferase® Reporter Assay System 10-Pack	1,000 assays	E1960
Dual-Luciferase® Reporter 1000 Assay System	1,000 assays	E1980

相关产品

报告基因检测和载体

欲知其它规格和检测试剂盒，请访问 www.promega.com 了解最新产品。

双报告基因检测试剂	规格	目录号
Chroma-Glo™ Luciferase Assay System	10ml	E4910

萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂	规格	目录号
ONE-Glo™ Luciferase Assay System	10ml	E6110
Bright-Glo™ Luciferase Assay System	10ml	E2610
Steady-Glo™ Luciferase Assay System	10ml	E2510

GloResponse™ 萤光素酶报告基因细胞系	规格	目录号
GloResponse™ CRE- <i>luc2P</i> HEK293 Cell Line	1 each	E8500
GloResponse™ NFAT-RE- <i>luc2P</i> HEK293 Cell Line	1 each	E8510
GloResponse™ NF-kB-RE- <i>luc2P</i> HEK293 Cell Line	2 vials	E8520
GloResponse™ 9XGL4 UAS- <i>luc2P</i> HEK293 Cell Line	2 vials	E8530

pGL4 报告基因载体

更多工具载体及预构建信号通路载体请查看 www.promega.com。

产品	规格	目录号
pGL4.10[<i>luc2</i>] Vector	20µg	E6651
pGL4.13[<i>luc2/SV40</i>] Vector	20µg	E6681
pGL4.14[<i>luc2/Hygro</i>] Vector	20µg	E6691
pGL4.17[<i>luc2/Neo</i>] Vector	20µg	E6721
pGL4.23[<i>luc2/minP</i>] Vector	20µg	E8411
pGL4.27[<i>luc2P/minP/Hygro</i>] Vector	20µg	E8451
pGL4.29[<i>luc2P/CRE/Hygro</i>] Vector	20µg	E8471
pGL4.30[<i>luc2P/NFAT-RE/Hygro</i>] Vector	20µg	E8481
pGL4.70[<i>hRluc</i>] Vector	20µg	E6881
pGL4.73[<i>hRluc/SV40</i>] Vector	20µg	E6911
pGL4.74[<i>hRluc/TK</i>] Vector	20µg	E6921
pGL4.75[<i>hRluc/CMV</i>] Vector	20µg	E6931

转染试剂

产品	规格	目录号
FuGENE® 6 Transfection Reagent	1 ml	E2691
	5 x 1 ml	E2692
	0.5 ml	E2693

产品	规格	目录号
FuGENE® HD Transfection Reagent	1 ml	E2311
	5 x 1 ml	E2312

普洛麦格（北京）生物技术有限公司
北京市东城区北三环东路36号环球贸易中心B座907-909
电话：010-58256268 传真：010-58256160
网址：www.promega.com.cn

双报告基因检测

仪器

GloMax®-Multi+ Detection System	规格	目录号
GloMax®-Multi+ Detection System with Instinct™ Software:Base Instrument with Shaking	1each	E8032
GloMax®-Multi+ Detection System with Instinct™ Software:Base Instrument with Heating and Shaking	1each	E9032
GloMax®-Multi+ Luminescence Module	1each	E8041
GloMax®-Multi+ Fluorescence Module	1each	E8051
GloMax®-Multi+ Visible Absorbance Module	1each	E8061
GloMax®-Multi+ UV-Visible Absorbance Module	1each	E9061

GloMax® 96 Microplate Luminometer	规格	目录号
GloMax® 96 Microplate Luminometer	1each	E6501
GloMax® 96 Microplate Luminometer w/Single Injector	1each	E6511
GloMax® 96 Microplate Luminometer w/Dual Injector	1each	E6521

GloMax® 20/20 Luminometer Systems	规格	目录号
GloMax® 20/20 Luminometer	1each	E5311
GloMax® 20/20 Luminometer with Single Auto-Injector	1each	E5321
GloMax® 20/20 Luminometer with Dual Auto-Injector	1each	E5331

细胞活力 / 增殖检测

欲知其它规格和检测试剂盒，请访问 www.promega.com 了解最新产品。

产品	目录号
CelliTer-96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay	G3580/G3582/G3582
CelliTer-96® Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay	G5421/G5430/G5440
CelliTer-Glo™ Luminescent Cell Viability Assay	G7570/G7571/G7572/G7573
CellTiter-Fluor™ Cell Viability Assay	G6080/G6081/G6082

细胞毒性检测

欲知其它规格和检测试剂盒，请访问 www.promega.com 了解最新产品。

产品	目录号
CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay	G1780
CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay	G9290/G9291/G9292
CytoTox-ONE™ Homogeneous Membrane Integrity Assay	G7890/G7891

miRNA 靶标表达载体

产品	规格	目录号
pmirGLO Dual-Luciferase miRNA Target Expression Vector	20µg	E1330

双报告基因检测试剂盒

Dual-Luciferase 报告基因检测试剂盒 与 Dual-Glo™ Luciferase 检测试剂盒

Bioluminescence



Promega

Printed in China 4/13
16336-BR-GN
Part #BR202



双报告基因检测试剂盒

双报告基因经常被用于提高实验的准确性。“双报告”一词指的是在同一个实验体系内同时表达和检测两种不同的用作报告蛋白的酶。通常，“实验组”报告基因反映的是某特定的实验条件所致的效应，而共转染的“对照组”报告基因的活性则提供了一个内对照，作为基线水平的反映。使用内对照活性对实验组报告基因的活性进行归一化，可将由于细胞活力或转染效率所引起的样品间差异减至最小。其它原因引起的误差，如加样体积的差异，细胞裂解效率和检测效率的差异等，均可被有效地降低。

与其它的单报告基因系统一样，Promega 的双报告基因系统包括了一个萤火虫萤光素酶基因，这个基因被设计为定位在目的反应元件的下游。另外，双报告基因系统还包含了第二个报告基因 - 海肾萤光素酶基因，这个基因受管家基因启动子的控制，设计使其在所有条件下均表现出活性。用萤火虫萤光素酶的读数与海肾萤光素酶的读数的比值来作图，即可去除细胞毒作用与转染效率的差异所引起的变异。

Promega 公司开发了 Dual-Luciferase Reporter (DLR™) 检测试剂盒与 Dual-Glo™ 检测试剂盒，实现了针对同一个样品依次检测萤火虫萤光素酶和海肾萤光素酶。通过将实验体系中目的基因反应与无关因素的影响加以区分，DLR™ 与 Dual-Glo™ 检测试剂盒可提供快速而便利的检测方法，用来解释报告基因数据的生物学意义。

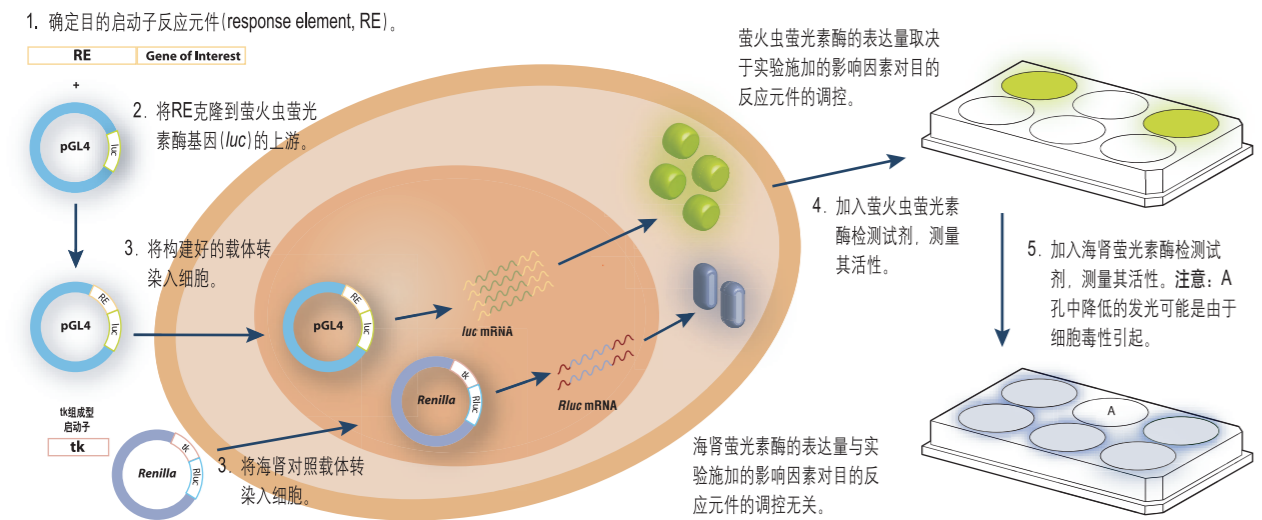


图 1. Promega 设计了双报告基因系统来控制细胞毒性和转染效率的差异。

Dual-Luciferase® 报告基因检测试剂盒

Dual-Luciferase® Reporter (DLR™) 检测系统提供了研究报告基因的方法，包括对内对照的检测，保障了实验的准确性，该方法强劲、高灵敏、便利而又值得信赖。DLR™ 检测试剂盒结合了萤火虫萤光素酶和海肾萤光素酶，可以在单一试管（或单一培养孔）内进行快速、连续地检测试剂盒，用于检测不同的基因表达事件。

在 Dual-Luciferase® Reporter 检测试剂盒中，萤火虫萤光素酶的检测是通过加入 Luciferase Assay Reagent II (LARII, 萤光素酶检测试剂 II) 来生成一个稳定的发光信号而实现的。当在该实验体系内加入 Stop & Glo® Reagent (Stop & Glo® 试剂) 时，萤火虫萤光素酶的发光信号被淬灭，而海肾萤光素酶的发光反应被激活，后者在整个检测过程中缓慢衰减。不论是对转染细胞，

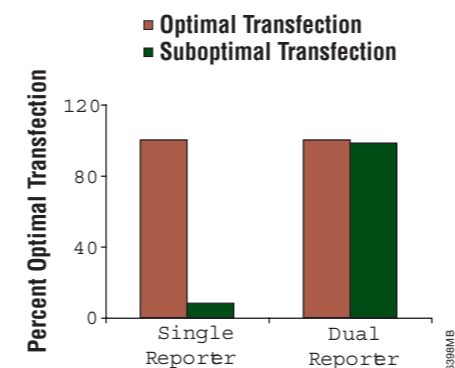


图 2. 使用和不使用归一化方法分析时，转染条件对报告基因结果的影响。将表达萤火虫萤光素酶的 pGL4.13[luc2(SV40)] 载体和表达海肾萤光素酶的 pGL4.74[hRluc/TK] 载体转染进入 HEK293 细胞。转染分成两组：最佳脂质/DNA 比率和非最佳脂质/DNA 比率（图中示为最佳转染条件和非最佳转染条件），使用 Dual-Luciferase® Reporter Assay System (Dual-Luciferase® 报告基因检测系统，Cat.# E1960) 检测每个样品的萤火虫萤光素酶和海肾萤光素酶的活性。一部分萤火虫萤光素酶的数据未进行归一化处理 (None)，另一部分萤火虫萤光素酶的数据使用海肾萤光素酶的活性进行归一化处理 (Vector)。数据以三个重复样品的平均值 ± 标准差显示，对于每种进行归一化处理的数据，数据显示为相对于最佳转染条件时的百分率。

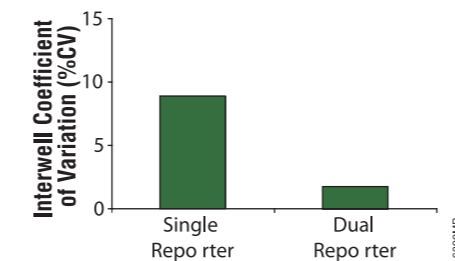


图 3. 归一化对数据显著性和变异的影响。将带有三种不同启动子之一的 pGL4.10[luc2] (萤火虫萤光素酶) 构建载体与 pGL4.74[hRluc/TK] (海肾萤光素酶) 对照载体共转染进入 HEK293 细胞。一部分萤火虫萤光素酶的数据未进行归一化处理 (None)，另一部分萤火虫萤光素酶的数据使用海肾萤光素酶的活性进行归一化处理 (Vector)。图中计算了进行归一化处理的数据的变异系数，并显示了使用和不使用归一化处理时所有载体的平均值 ± 标准差。

还是对无细胞的转录 / 翻译偶联反应体系，DLR™ 检测试剂盒的综合配方都可以提供针对两种报告基因进行快速定量。

对于大量样品的 DLR™ 检测，我们研制了 DLR™ 1000 检测系统，可用于 96 孔板的实验体系的发光检测。

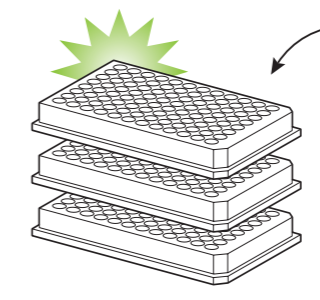
Dual-Luciferase® 检测系统的特点：

- 带有海肾萤光素酶作为内对照：与单报告基因相比较，结果更准确。
- 方便的单孔检测模式：不需要将样品分成几份再进行报告基因的检测。
- 快速：两种报告基因的检测均可在几秒钟之内完成。
- 灵敏度高：可进行弱启动子、低表达 / 调控水平、低转染效率时蛋白表达的研究
- 线性范围宽：线性范围覆盖酶浓度的 7 个数量级；通常不需要对活性非常高的样品进行稀释
- 背景低：哺乳动物细胞中无内源性报告基因的表达

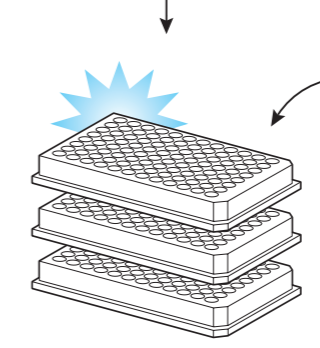


Figure 4. Dual-Luciferase® Reporter Assay

Dual-Glo™ Luciferase Assay:



步骤 1: 将 Dual-Glo™ Luciferase Reagent (Dual-Glo™ 萤光素酶试剂) 直接加入细胞培养物中。等待 10 分钟后，即可在 2 小时内检测萤火虫萤光素酶的活性。



步骤 2: 将 Dual-Glo™ Stop & Glo® Reagent (Dual-Glo™ Stop & Glo® 试剂) 加入上述体系。等待 10 分钟后，即可在 2 小时内检测海肾萤光素酶的活性。

图 5. Dual-Glo™ 萤光素酶检测方法。

Dual-Luciferase® 报告基因检测试剂盒

Dual-Glo™ Luciferase Assay System (Dual-Glo™ 萤光素酶检测系统) 是一种均质的试剂系统，可对同一个样品的两种报告基因的稳定的发光信号进行快速而简便的定量检测。该试剂盒被设计用于高通量的定量检测，可检测生长在 96 或 384 孔板内的哺乳动物细胞中表达的萤火虫萤光素酶和海肾萤光素酶。这个系统进行基于细胞的高通量筛选应用时，可提供高 z' 值和超级可信的结果。该系统采用方便的“加样 - 读数”模式，不必预先处理或裂解细胞，即可得到萤火虫萤光素酶和海肾萤光素酶的信号。

Dual-Glo™ 萤光素酶检测系统的特点：

- 提高了精度和准确性：将实验结果针对内对照进行归一化处理，共报告基因使细胞数量与健康程度、转染效率以及非特异性的细胞反应的影响减至最低。
- 均质模式：操作步骤减少。不需要离心或裂解步骤。对生长在培养基中的细胞可直接进行两种报告基因的检测。
- 信号稳定：可进行实验台的小规模检测，也可进行连续的 96 或 384 孔板的检测。每种发光信号均可在加入试剂 2 小时之内检测。
- 方便：简单的两步法检测试剂盒提高了筛选的效率，适合于任何一种发光检测仪。不需要仪器配置自动进样器。
- 线性范围宽：不需要对样品进行稀释，即可分析很高和很低的报告基因活性。对于每种报告基因，线性范围可覆盖酶浓度的 6 个数量级。

双报告基因检测系统		
	Dual-Luciferase®检测试剂盒	Dual-Glo™检测试剂盒
形式	非均质检测(必须先制备裂解物)	均质检测(仅需向细胞培养物中加入试剂)
样品处理能力	实验台小规模操作	批处理
操作步骤数量	5	2
灵敏度	较高	较低
萤火虫信号半衰期	-9分钟	-2小时
海肾信号半衰期	-2分钟	-2小时
精度	高	高
细胞裂解时间	~10分钟	~15分钟

来自 Promega 的 GloMax® 整体化发光检测系统

GloMax® 产品线包括 GloMax® 20/20- 单管发光检测仪、GloMax® 96- 96 孔板发光检测仪和 GloMax® -Multi 检测系统，性能可与专一功能的发光检测仪相媲美的多功能微孔板检测仪。

