Genomeditech (Shanghai) Co., Ltd.
Order: +86 021-50432825/50432826
Email: service@genomeditech.com

V 1.0.2

GMOne-Step 3.0 Luciferase Reporter Gene Assay Kit

GMOne-Step 3.0 荧光素酶报告基因检测试剂盒

产品信息：

产品编号	产品名称	规格
GM-040523A	GMOne-Step 3.0 Luciferase Reporter Gene Assay Kit GMOne-Step 3.0 荧光素酶报告基因检测试剂盒	100T
GM-040523B		100T × 10
GM-040523C		1000T
GM-040523D		1000T × 10

检测原理：

萤火虫荧光素酶（Firefly luciferase）是一种分子量约为 61 kDa 的蛋白，在 ATP、镁离子和氧气存在的条件下，能够催化荧光素（luciferin）氧化成 oxyluciferin，在氧化的过程中会发出波长约 560 nm 的生物荧光。

检测原理如图 1 所示：

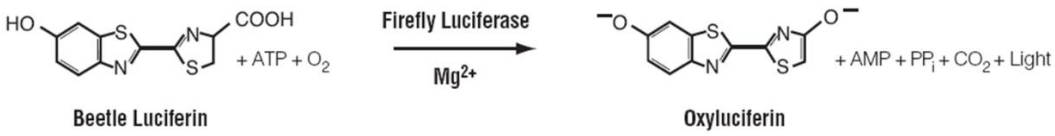


图 1：萤火虫荧光素酶检测原理图

产品简介：

吉满 GMOne-Step 3.0 荧光素酶报告基因检测试剂盒（GMOne-Step 3.0 Luciferase Reporter Gene Assay Kit，简称 GMOne-Step 3.0）具有操作简便、信号强度高、气味低等特点。与 GMOne-Step 2.0（GM-040513）相比，本产品在检测性能方面基本保持一致检测效果对比图见图2，且几乎无明显气味。实验过程中无需对细胞进行清洗或收集，只需将检测试剂直接加入培养基中，即可一步完成细胞裂解与荧光素酶活性检测，有效简化实验流程并节省操作时间。

本试剂盒兼顾了信号强度与稳定性，在保持较高信号强度的同时，可在一定时间内维持相对稳定的检测信号，从而有助于获得准确、可靠的实验结果。检测信号半衰期通常可达 1 小时以上。

此外，本产品具有较宽的线性检测范围。在 96 孔板体系中，细胞数量在 20 万个以内时，通常可呈现良好的线性关系，能够满足不同细胞数量条件下的实验需求；本产品对转染萤火虫荧光素酶报告基因质粒的不同细胞量的Raji细胞（Luc Raji cell line）的检测效果如图 3 所示。

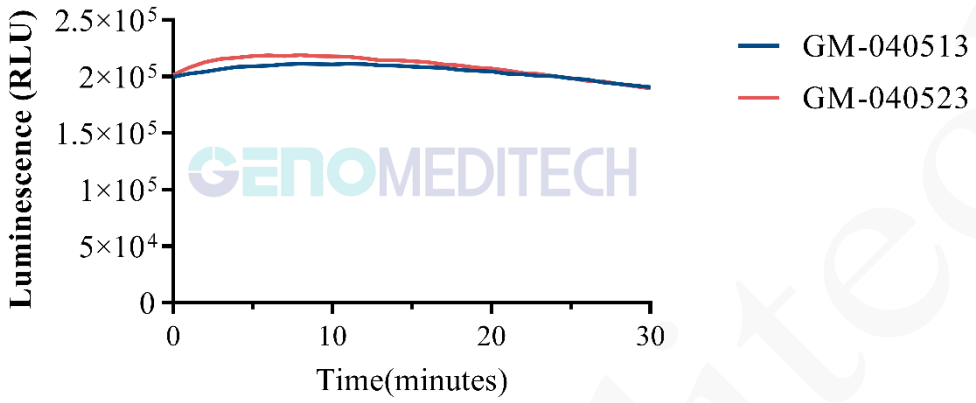


图 2：不同试剂检测转染萤火虫荧光素酶报告基因质粒的不同细胞量的 Luc Raji cell line 效果对比图。

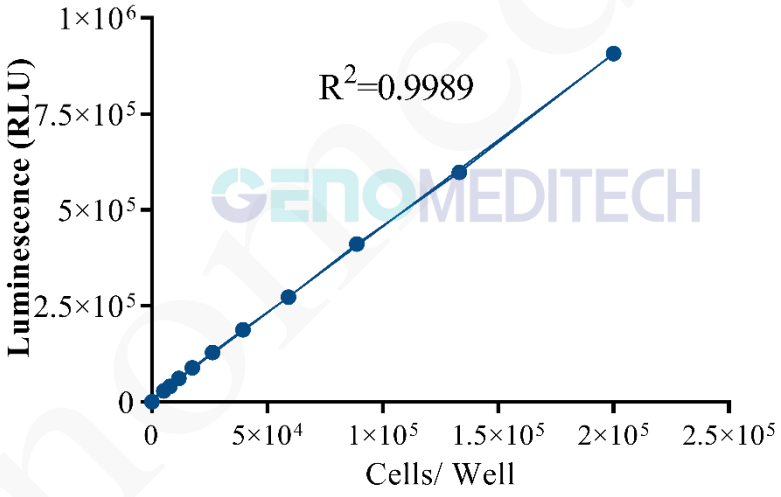


图 3：本产品对转染萤火虫荧光素酶报告基因质粒的不同细胞量的 Luc Raji cell line 细胞的检测效果。首孔细胞数量 2E5（悬液），按 1.5 倍连续稀释，10 个梯度，末孔细胞数量 5.2E3。每个梯度 3 复孔，取均值。实际读数会因各种原因存在差异，图中数据仅供参考。

运输和复温：

干冰运输。使用前完全恢复室温即可。

保存条件：

-80 ℃避光保存，未开封试剂有效期一年；开封后建议分装并避光-80℃保存，避免长时间放置于室温。

实验准备：

1. 主要实验耗材与设备：200 μL 移液器或者排枪；不透光白色酶标板或黑色酶标板；多功能酶标仪或者其他能够检测生物发光的仪器。

2. 反应温度：酶促反应对温度较为敏感，请将细胞培养板、检测试剂及酶标仪（可在仪器上设定温度）平衡至室温（最好 20-25 ℃）后再使用；试剂复温环境温度不能超过 25 ℃。

注：培养箱中取出培养板，室温放置 20 min 以平衡至室温。检测试剂解冻后要完全恢复到室温再使用。

3. 检测仪器设置：以 Molecular Devices SpectraMax L 酶标仪为例：PMT Setting（检测器参数设置）选 AutoRange；Target Calibration Wavelength（校准波长）设为 470 nm；勾选 Shake before Read（读数前振板）。

4. 检测板：为防止孔间干扰，推荐使用不透光白色酶标板或者黑色酶标板；如测量光度值较高，为避免互相干扰，也可隔孔上样。

5. 实验中请穿实验服并戴一次性手套。

实验步骤（以 96 孔板为例）：

1. 裂解细胞

   1) 贴壁细胞：推荐汇合度在 90% 以上。不用吸除细胞培养基，通常直接加入与培养基等体积的本试剂即可。

   2) 悬浮细胞：只要细胞生长良好，一般无密度要求。其余操作同贴壁细胞。

   推荐使用量

细胞培养皿	384 孔板	96 孔板
培养基体积	25 µL	100 µL
添加试剂体积	25 µL	100 µL

2. 直接加入试剂后用枪头吹打 5 次，**等待 5 min**，使细胞充分裂解。

3. 枪头吹打时尽量不要有泡沫和气泡出现。

4. 上样

   每孔吸取 100 µL 混合液（检测试剂＋细胞培养基）到检测板。

5. 荧光检测

   设置酶标仪参数（参考上文“检测仪器设置”）。将检测板放入酶标仪即可检测。

注意事项：

温度影响：温度直接影响荧光素酶的反应速率，进而影响发光强度与信号半衰期。因此，加样前应将细胞培养板与本试剂盒均平衡至室温，以保证检测结果的一致性。如将多孔板堆叠放置，将需要更长时间恢复到室温。如未充分平衡，可能导致孔板中心与四周出现边缘效应（Edge Effect）。

本试剂盒仅供科研使用！