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

V 1.0.1

GMOne-Step Luciferase Reporter Gene Assay Kit

GMOne-Step 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-040503A	GMOne-Step Luciferase Reporter Gene Assay Kit GMOne-Step 荧光素酶报告基因检测试剂盒	10 mL（100 次）
GM-040503B		10 × 10 mL（1000 次）
GM-040503C		100 mL（1000 次）
GM-040503D		10 × 100 mL （10000 次）

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为 560 nm 左右的生物荧光。

检测原理如图所示：

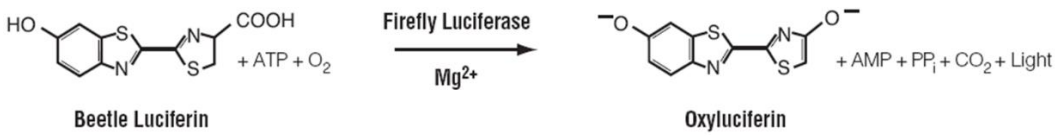


图 1：萤火虫荧光素酶检测原理图

产品简介：

吉满的产品 GMOne-Step 荧光素酶报告基因检测试剂盒（GMOne-Step Luciferase Reporter Gene Assay Kit，简称GMOne-Step)的特点是操作非常简便。实验前无需对细胞进行清洗或收集，而且可以直接使用，对细胞的裂解和检测一步完成，省去了混合试剂的步骤，节省了实验时间。本试剂盒在发光值与稳定性之间做到了相对平衡。即保持了相对较高的发光值，又在一定的实验时间内保持发光值的相对稳定。使得实验结果准确可靠。

本产品测定样品的线性范围非常宽。在96孔板中，本产品可以在20万个细胞范围内呈现良好的线性关系。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细胞的检测效果如下图2

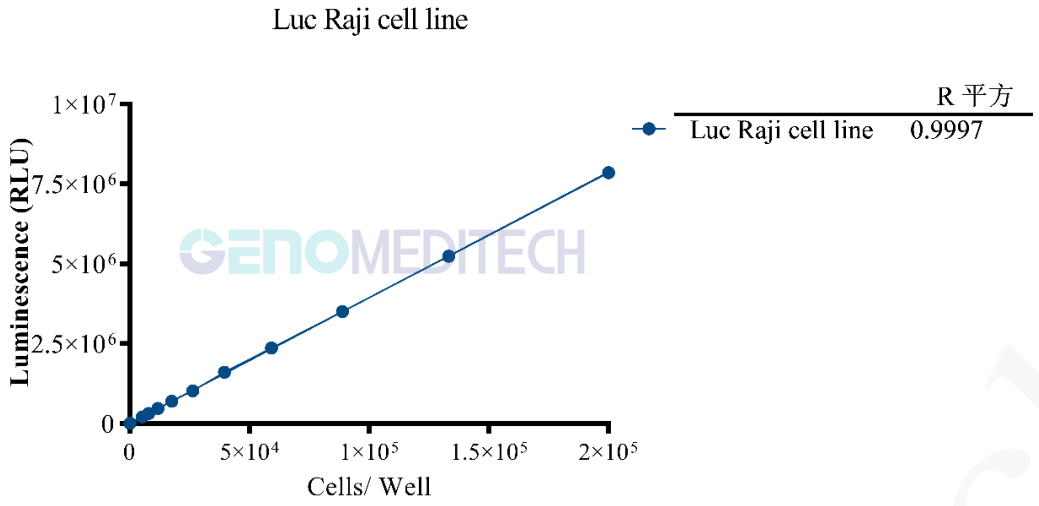


图2：本产品对转染萤火虫荧光素酶报告基因质粒的不同细胞量的Raji细胞的检测效果。首孔细胞数量2E5（悬液），按照1.5倍连续稀释，10个梯度，末孔细胞数量5.2E3。每个梯度3复孔，取均值。实际读数会因各种原因存在差异，图中数据仅供参考。

运输和复温：

干冰运输。使用前完全恢复室温即可。

保存条件：

-80ºC 避光保存，未开封试剂有效期一年；如果-20ºC 避光保存，推荐 3-6 个月内使用。拆封后推荐分装（避光）。

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，酶标仪（可在机器设定温度）平衡至室温（最好 20-25℃）时再使用；检测试剂复温环境不能超过 25℃。
3) 检测仪器设置：以 Molecular Devices Spectra Max L 机器为例。 PMT Setting （检测器参数设置）：AutoRange ；Target Calibration Wavelength （校准波长）： 470 nm。选择 shake before Read。
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) 如样品较多，推荐使用排枪添加检测试剂。
6) 实验中请穿实验服并戴一次性手套。

实验步骤：

1) 裂解细胞

a: 贴壁细胞：推荐汇合度在 90%以上。不用吸除细胞培养基，通常加入与培养基同体积的混合试剂即可。

b: 悬浮细胞：只要细胞生长良好，一般无密度要求。其他同贴壁细胞。

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

①. 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。

②. 用枪头吹打时尽量不要有泡沫和气泡出现。

2) 上样

每孔吸取 100 μL 混合液（检测试剂+细胞培养基）到白色检测板。（如样本量较大推荐用排枪吸）

3) 荧光检测

设置酶标仪参数（参考 **实验准备** 4）。将白色检测板放入酶标仪。震动几秒。检测即可。

FAQ：

1) 问：不同保存温度对试剂盒的检测效果是否有影响？

答：各种温度保存效果如下

①. 室温保存6.5 h 可保留约95%以上的检测效果。

②. 在4℃条件下，保存4天检测效果下降约6%左右。

2) 问：冻融对试剂盒的检测效果是否有影响？

答：经相关实验表明-70℃反复冻融 5 次对发光值影响极其微小，且稳定性基本无变化。但为了获得相对较好的实验数据，不推荐多次冻融。

本试剂盒仅供科研使用！

Genomeditech