

V 1.0.1

# GMBrightOne-Step Luciferase Reporter Gene Assay Kit

## GMBrightOne-Step 荧光素酶报告基因检测试剂盒

For research use only!

本品仅供科研使用，严禁用于治疗！

## 产品信息:

产品编号	产品名称	规格
GM-040505A	GMBrightOne-Step Luciferase Reporter Gene Assay Kit GMBrightOne-Step 荧光素酶报告基因检测试剂盒	10 mL (100 次)
GM-040505B		10 × 10 mL (1000 次)
GM-040505C		100 mL (1000 次)
GM-040505D		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：

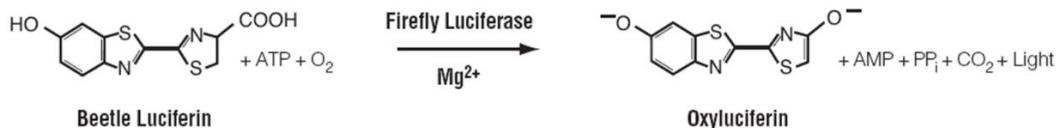


图 1：萤火虫荧光素酶检测原理图

## 产品简介:

吉满的产品 GMBrightOne-Step 荧光素酶报告基因检测试剂盒 (GMBrightOne-Step Luciferase Reporter Gene Assay Kit, 简称GMBrightOne-Step )的特点是操作非常简便，高灵敏度，高信号强度。适合于对灵敏度有较高要求的实验。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。

本产品测定样品的线性范围非常宽。在96孔板中，可以在10万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 (Luc Raji cell line) 的检测效果如下图2

### Luc Raji cell line

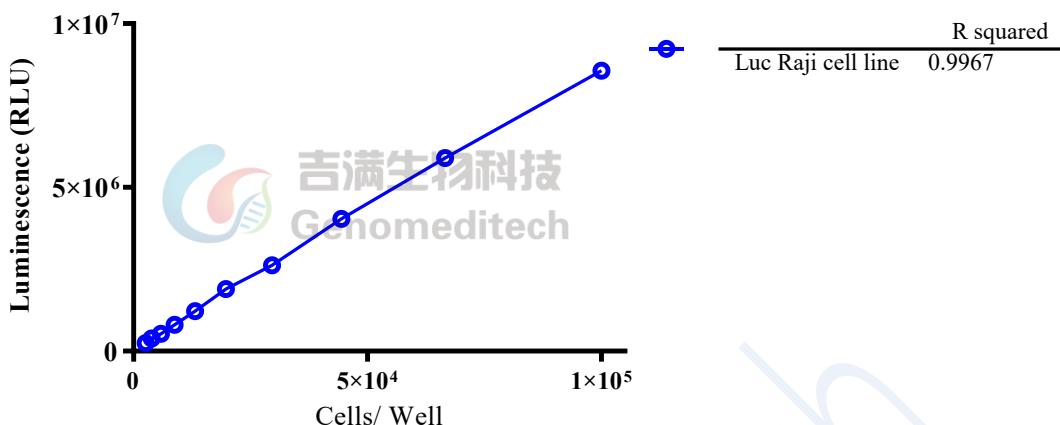


图2：本产品对转染萤火虫荧光素酶报告基因质粒的不同细胞量的Luc Raji cell line细胞的检测效果。首孔细胞数量1E5（悬液），按照1.5倍连续稀释，10个梯度，末孔细胞数量2.6E3。每个梯度3复孔，取均值。实际读数会因各种原因存在差异，图中数据仅供参考。

#### 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°C 避光保存，未开封试剂有效期一年；如果-20°C 避光保存，推荐2个星期以内使用。拆封后推荐分装（避光）。不建议长时间放在室温。

#### 实验准备：

1) 主要实验耗材与设备：200  $\mu$ L 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°C）时再使用；检测试剂复温环境不能超过25°C。

注：培养箱中取出培养板，室温放置20min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 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) 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

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 $\mu$ L	100 $\mu$ L
添加试剂体积	25 $\mu$ L	100 $\mu$ L

a) 直接加入试剂后用枪头吹打 5 次，使细胞裂解更充分。等待 **5 min**，使细胞充分裂解。

b) 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  $\mu$ L 混合液（检测试剂+细胞培养基）到检测板；

#### 3) 荧光检测

设置酶标仪参数（参考实验准备 3），将检测板放入酶标仪，震动几秒，检测即可。

### 注意事项：

温度影响：温度直接影响荧光素酶的反应速率。而发光强度和半衰期取决于荧光素酶的反应速率。所以在加样前，应将需要将本试剂盒细胞培养板均平衡至室温，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，可导致中心孔和四周孔之间的梯度效应。

### FAQ：

1) 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°C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！**