



One-Step Firefly Luciferase Assay Kit

一步法萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒

版本号: V260301

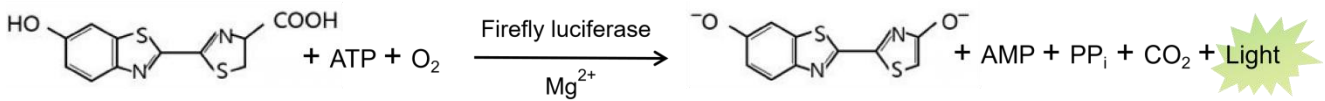
货号: C201
保存: -80°C
运输: 干冰

货号	规格
C201-01	10 ml
C201-10	100 ml

【产品概述】

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。

检测原理如下:



一步法萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒适用于检测样品中萤火虫荧光素酶活性。在实验前无需对细胞进行清洗或收集, 将本产品等体积加入细胞培养基中, 细胞裂解和检测一步即可完成, 极大程度上节省了实验时间。本试剂盒操作简单, 读数稳定, 检测速度快, 完成检测仅需约 10 min。即保持了相对较高的信号强度, 又在一定的时间内保持信号强度的相对稳定。使得实验结果准确可靠。半衰期通常可达 1 h 以上。本产品测定样品的线性范围宽。96 孔板中, 可以在 20 万个细胞范围内呈现良好的线性关系。

【产品特点】

1. 操作简便: 使用前无需混合底物及检测液, 将本产品等体积加入细胞培养基中即可进行发光实验。
2. 检测灵敏度高, 测定样品的线性范围宽: 在 20 万个细胞范围内呈现良好的线性关系。
3. 信号强度高且稳定: 1 h 以上半衰期的稳定光信号。
4. 兼容性强: 兼容细胞样本及裂解好样本, 细胞样本不受培养基干扰。

【产品组分】

组分货号	组分名称	C201-01	C201-05
ZC201-101	One-Step Firefly Luciferase Assay Mix	10 ml	100 ml

【保存条件】

-80°C 保存, 保质期 12 个月, -20°C 避光保存, 推荐 3-6 个月内使用。

【操作步骤】

一、细胞样本直接检测:

1. 细胞的准备:

使用适合化学发光检测的 96 孔板, 每孔接种 100 μ l 细胞, 同时设置不含细胞的培养液孔作为阴性对照, 按照细胞培养和细胞转染的常规方法培养和转染细胞。如有需要, 可加入药物处理细胞。

注: 如使用 384 孔板, 每孔接种 25 μ l 细胞, 具体用量视不同类型的 384 孔板而定。
2. 检测试剂的准备:

融解冻存的 One-Step Firefly Luciferase Assay Mix, 按照 96 孔板每孔 100 μ l (384 孔板每孔 25 μ l) 的量, 取适量 One-Step Firefly Luciferase Assay Mix, 平衡至室温。



3. 萤光素酶检测:

- 1) 取出细胞培养板在室温平衡 10 min (通常不宜超过 30 min) ;
- 2) 96 孔板每孔加入 100 μ l One-Step Firefly Luciferase Assay Mix (384 孔板每孔 25 μ l);
- 3) 室温 25 $^{\circ}$ C 孵育 5 min, 使发光信号趋于稳定;
- 4) 使用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪进行化学发光检测。请根据仪器要求设置相应的参数, 每个孔的检测时间一般为 0.25 - 1 s 或更长时间, 具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。

二、裂解并收集细胞后检测: (适用于细胞量比较大, 例如细胞培养在培养皿或 6 孔板中可以考虑采用)

1. 细胞的收集裂解:

对于贴壁细胞: 吸净细胞培养液后加入适量细胞裂解液 (自备);

对于悬浮细胞: 离心去上清后加入适量细胞裂解液 (自备);

注: 如果萤光素酶的表达水平比较低, 可以尝试使用较少的裂解液。

2. 充分裂解后, 10,000-15,000g 离心 3-5 min, 取上清用于测定。

注: 细胞裂解后可立即测定萤光素酶, 也可以先冻存, 待以后再测定。冻存样品需融解, 到室温后再进行测定。

3. 取 20 μ l 细胞裂解液, 加入 100 μ l 已经融解并平衡至室温的 One-Step Firefly Luciferase Assay Mix, 适当混匀;
4. 室温 25 $^{\circ}$ C 孵育 5 min, 使发光信号趋于稳定;
5. 使用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪进行化学发光检测。请根据仪器要求设置相应的参数, 每个孔的检测时间一般为 0.25-1 秒或更长时间, 具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。

【补充说明】

1. 本产品在 -20 $^{\circ}$ C 保存, 推荐在 3-6 个月内使用。-20 $^{\circ}$ C 保存检测效果会逐渐下降, 保存半年后其发光效果会降低约 50%, 此时仍可满足各种常规检测。
2. 由于萤光素酶的活性对温度比较敏感, 反应前细胞和检测试剂均需达到室温后再进行测定。可将检测试剂在室温或不超过 25 $^{\circ}$ C 的水浴中融解并混匀后使用。
3. 本产品解冻后可以采取适当分装后避光保存的方法, 以避免反复冻融和长时间暴露于室温。反复冻融过程中, 可能会导致检测试剂中出现少量沉淀, 此时宜平衡至室温, 并尽量溶解。如仍有残留的不溶物, 可以离心去除后使用, 经测试不会影响后续的检测效果。
4. 请使用适合于细胞培养的白色或黑色的 96 孔板或 384 孔板。如果使用普通透明的 96 孔板或 384 孔板, 相邻孔之间会产生相互干扰。
5. 96 孔板中, 通常本产品在 20 万个细胞范围内呈现良好的线性关系, 但实际检测中因细胞种类、转染效率、表达水平等导致检测的细胞上限有所差异。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。