

V 1.0.2

GMOne-Step Luciferase Reporter Gene Assay Kit

GMOne-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-040503A	GMAOne-Step Luciferase Reporter Gene Assay Kit GMAOne-Step 荧光素酶报告基因检测试剂盒	100T
GM-040503B		100T × 10
GM-040503C		1000T
GM-040503D		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:

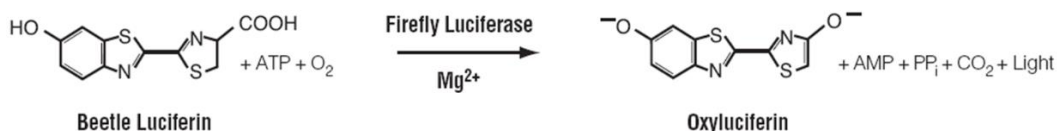


图 1: 萤火虫荧光素酶检测原理图

产品简介:

吉满的产品 GMAOne-Step 荧光素酶报告基因检测试剂盒 (GMAOne-Step Luciferase Reporter Gene Assay Kit, 简称GMAOne-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人恶性黑色素瘤细胞 (SK-MEL-28) 的检测效果如下图2

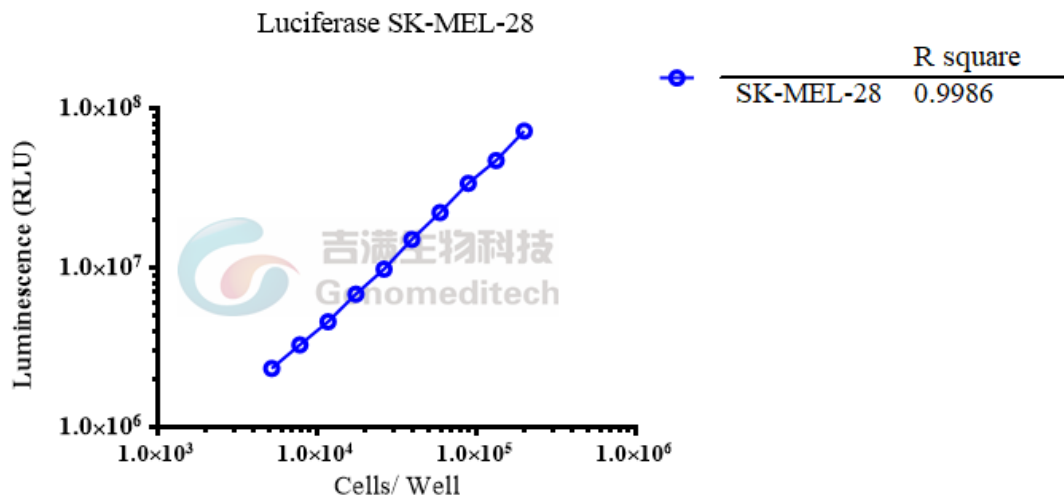


图2: 本产品对转染萤火虫荧光素酶报告基因质粒的不同细胞量的SK-MEL-28细胞的检测效果。首孔细胞数量 2×10^5 (悬液), 按照1.5倍连续稀释, 10个梯度, 末孔细胞数量 5.2×10^3 。每个梯度3复孔, 取均值。实际读数会因各种原因存在差异, 图中数据仅供参考。

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 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 μ 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。
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

- 1) 贴壁细胞: 推荐汇合度在 90%以上。不用吸除细胞培养基, 通常加入与培养基同体积的混合试剂即可。
- 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 μ L	100 μ L
添加试剂体积	25 μ L	100 μ L

2. 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。
3. 用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 μ L 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)

5. 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°C 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°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!