

# Steady-One Step Luciferase Assay Kit

## Steady-One Step 萤光素酶报告基因检测试剂盒

### 产品简介

萤火虫萤光素酶 (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, 能够催化萤光素 (luciferin) 氧化成 oxyluciferin, 在氧化的过程中会发出波长为 560 nm 左右的生物萤光。

检测原理如图所示:

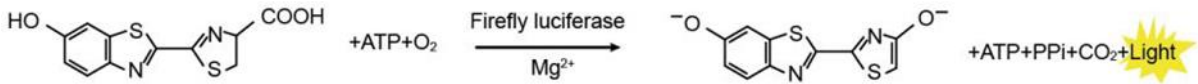


图 1: 萤火虫萤光素酶检测原理图

翌圣生物 Steady-One Step 萤光素酶报告基因检测试剂盒的特点是操作简便, 半衰期可持续 5 h 以上。尤其在前 2 h 发光值变化较小。适合于超高通量或 384 孔板检测。实验前无需对细胞进行清洗或收集, 可以直接使用, 细胞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。

### 产品信息

货号	11413ES60/11413ES80/11413ES81
规格	100T/10×100T /1000T

### 组分信息

组分名称	11413ES60	11413ES80	11413ES81
Steady-One Step 萤光素酶报告基因检测试剂	10 mL	10×10 mL	100 mL

### 储存条件

-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)。

### 使用说明

#### 1. 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°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 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: 根据实验室所用仪器, 设置对应参数即可。

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。

## 2. 实验步骤 (以 96 孔板为例)

### 1) 裂解细胞

- 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。
- 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

- 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。
- 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

- 本产品仅作科研用途。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
- 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。