

# One-Step Firefly Luciferase Assay Kit

## (一步法萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒)

### 产品介绍

报告基因检测是现代分子生物学研究领域分析结构基因旁侧区域潜在的顺式元件（如启动子、增强子和沉默子等）和反式作用因子相互作用关系的一种重要工具。萤火虫萤光素酶（Firefly Luciferase）分子量约 61 kDa 的蛋白，在 ATP、Mg<sup>2+</sup> 和 O<sub>2</sub> 存在条件下，催化其底物甲虫萤光素（Beetle Luciferin）氧化成氧化萤光素（Oxyluciferin）并发出波长是 560 nm 左右的萤光。

本产品主要适用于 ADCC、ADCP 活性的常规检测，是抗体筛选、抗体糖基化修饰等研究的有效手段。本试剂盒的光信号是一种闪光型化学发光，信号半衰期约为 20 min。请用酶标仪的化学发光检测模块进行测定。检测原理见图 1。

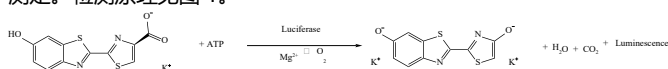


图 1 检测原理图

### 应用范围

ADCC、ADCP活性常规检测、抗体筛选、抗体糖基化修饰

### 产品货号

F6072S/F6072M/F6072L

### 储运条件

-80℃避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

### 产品特点

**快速省时：**萤光素酶检测 10~15 min 内完成；

**操作简便：**将冻干底物与缓冲液简单混合即可使用，样品检测步骤简单；

**灵敏度高：**能够检测最低 10<sup>-20</sup> mol 的萤光素酶；

**荧光亮度高：**更强的光输出，产生比其它萤光素酶检测试剂高 10 倍的光强度。

### 产品组分

| 组分                                          | F6072S<br>(50 T) | F6072M<br>(500 T) | F6072L<br>(5×500 T) |
|---------------------------------------------|------------------|-------------------|---------------------|
| A. One-Step Firefly Luciferase Assay Buffer | 5 mL             | 50 mL             | 2×50 mL             |
| B. D-Luciferin                              | 1 mg             | 10 mg             | 2×10 mg             |

注：B 组分建议预先使用无菌水配制为 2 mg/mL 储液，A 组分及配制为储液的 B 组分，根据实验需求进行小批量分装。检测工作液建议现配现用，避免反复冻融。

### 注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 萤火虫萤光素酶催化的生物发光的最强波长为 560 nm。请用化学发光（Luminescence）模块进行检测。
- 为防止孔间干扰，建议使用白色不透光孔板。
- 本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品和药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 自备材料

- 耗材  
离心管
- 试剂  
(1) 1×PBS
- 仪器  
(1) 微型振荡器 (2) 摇床 (3) 多功能酶标仪

### 操作步骤

#### 1. 工作液配制

- 将所有组分恢复至室温。
- 用 A 组分充分稀释 B 组分（储液），配制 0.2 mg/mL 的萤火虫萤光素酶工作液，涡旋震荡，确保充分混匀。

注：萤火虫萤光素酶工作液不能反复冻融，若单次实验用量较少，建议按单次使用量分装成小规格。在室温下，工作液配制 3 h 后，活性下降约 10%，5 h 后，活性下降约 25%。

#### 2. 化学发光值检测

- 从培养箱中拿出细胞培养板（ADCC 实验），室温孵育 20 min，使其恢复至室温（22~25℃）。
- 向培养板中加入与培养基等体积的萤火虫萤光素酶工作液，混匀。
- 室温孵育 5 min。
- 用多功能酶标仪或化学发光仪读取数值（测定时间为 10 s，测定间隔为 2 s）。

### FAQ

- 问：底物 B 组分的颜色到底是无色还是黄绿色？  
答：本底物是我们公司自主合成的，不同批次间存在批间差，这是正常现象。
- 问：酶标仪的检测设置？  
答：Luminescence, 350~700 nm，建议检测时间设为 2~10 s。请注意不是吸光度（Absorption）板块。
- 问：检测使用的板子应该怎么选择？  
答：为防止孔间干扰，建议使用白色不透光孔板。黑色不透光孔板也可使用，但相较于白色不透光板测得的荧光值会低。
- 问：怎么保证数据重复性和复孔误差？  
答：(1) 为取得最佳测定效果，在用单管的化学发光仪测定时，样品和测定试剂混合后到测定前的时间应尽量控制一致；使用具有化学发光测定功能的多功能酶标仪时，宜先把样品全部加好，然后用排枪统一加入萤火虫萤光素酶检测试剂。  
(2) 由于温度对酶反应有影响，所以测定时，样品和试剂均需达到室温后再进行测定。
- 问：荧光值过高是什么原因造成的？该怎么解决？  
答：(1) 荧光值过高可能会超出仪器检测范围，从而检测不到值。  
(2) 减少质粒转染量。  
(3) 细胞样品裂解后，离心取上清后检测或对裂解产物进行稀释后检测。  
(4) 不建议通过减少底物量来降低荧光值，需要保证底物的饱和来反映萤光素酶真实的表达水平，否则会造成检测结果出现大的偏差。
- 问：荧光值过低或无荧光值是什么原因造成的？该怎么解决？  
答：(1) 萤光素酶的表达水平与启动子活性相关，正常表达水平下检测到的荧光值应在 10<sup>5</sup> 数量级左右，若检测到的荧光值比较低或无荧光值，可从启动子活性、转染效率、检测过程这几方面进行考虑。  
(2) 转染效率低。

- 1) 优化转染实验条件，用较易转染的质粒做阳性对照（如转染过表达荧光蛋白质粒）；
- 2) 确保转染 DNA 的质量，可通过酶切或琼脂糖凝胶电泳的方法对 DNA 质量进行鉴定；
- 3) 选择活性较高，处于指数分裂期的细胞进行转染。
- (3) 启动子活性低或诱导失败。
  - 1) 转染后的细胞培养使用特异性诱导启动子的条件；
  - 2) 优化细胞的培养条件，提高荧光素酶的表达量；
  - 3) 更换强启动子（如 SV40、CMV）。
- (4) 样品裂解效率低。
  - 1) 细胞培养时间不宜过长，12~36 h 内最好，长时间培养后，细胞可能会难裂解。
  - 2) 加入的裂解液需足量，保证细胞能够充分裂解。
- (5) 检测过程操作不规范。
  - 1) 选择合适的检测仪器，能够检测化学发光或者生物发光的仪器都适用于该实验；
  - 2) 需加入足量底物，保证底物的饱和，否则会造成检测结果出现很大偏差；
  - 3) 室温反应。反应时各个组分（细胞裂解产物，底物工作液等）都需要调整到室温；
  - 4) 荧光素酶的半衰期一般约 30 min，加完底物后可立即检测，尽量在 30 min 内完成。
- (6) 底物氧化失效。
  - 1) 底物避光密封保存，萤火虫荧光素酶底物-20℃ 保存；
  - 2) 反应工作液建议现用现配。

## 同系列产品

| 产品货号  | 产品名称                                                        | 选购指南                              |
|-------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| F6075 | Dualucif® Firefly & Renilla Assay Kit (双荧光素酶报告基因检测试剂盒)      | 双报告基因检测，海肾作为内对照，结果更准确，实验重复性高      |
| F6072 | 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) | 适合用于 ADCC, ADCP 活性检测，抗体筛选，抗体糖基化修饰 |
| F6024 | Firefly Luciferase Assay Kit (萤火虫荧光素酶报告基因检测试剂盒)             | 真核基因表达调控研究，萤火虫化学发光检测              |
| R6073 | Renilla Luciferase Assay Kit (海肾荧光素酶报告基因检测试剂盒)              | 真核基因表达调控研究，海肾化学发光检测               |

## 相关产品

| 产品货号  | 产品名称                                      |
|-------|-------------------------------------------|
| L7003 | LipoGene 2000 Plus 转染试剂（高效款）              |
| L7002 | LipoGene 2000 Star 转染试剂（低毒款）              |
| D1009 | D-Luciferin, Potassium Salt (D-荧光素钾盐)     |
| D1010 | D-Luciferin, Potassium Salt (D-荧光素钾盐，增强型) |
| D1007 | D-Luciferin, Sodium Salt (D-荧光素钠盐)        |