

Meilun GUS Staining Kit

GUS 染色试剂盒

产品编号: MA0420 规格: 50ML

产品内容

产品组成	MA0420-50ML
X-Gluc	粉末
X-Gluc 溶解液	1 ml
GUS 染色缓冲液	50 ml
说明书	1 份

产品简介

美仑GUS染色试剂盒 (GUS Staining Kit) 采用经典的组织化学方法, 通过与底物的颜色反应来对植物中gus基因融合标记进行快速检测。

gus基因存在于大肠杆菌E.coli等一些细菌基因组内, 其表达产物 β -葡萄糖苷酸酶 (GUS, β -glucuronidase, β -D-葡萄糖苷酸酶) 是一种水解酶, 能催化许多 β -葡萄糖苷酯类物质的水解。因为绝大多数植物细胞内不存在 β -葡萄糖苷酸酶的背景活性, 因此gus基因是转基因植物最常用的报告基因之一, 尤其是在研究外源基因瞬时表达的转化实验中被广泛应用。

β -葡萄糖苷酸酶可以将5-溴-4-氯-3-吲哚- β -葡萄糖苷酸酯 (X-Gluc) 分解为蓝色的不溶物质, 因此用含有X-Gluc底物的染色液浸泡转gus基因植物, 具有GUS活性的部位或位点呈现蓝色或蓝色斑点, 可用肉眼或显微镜观察到。其检测方法简单、快速、灵敏、稳定, 且背景活性低。

本试剂盒包含GUS染色的全部试剂, 使用方便, 只需将配制好的X-Gluc溶液和染色缓冲液按照比例混合即配成GUS染色液。该试剂盒可以配制50ml的GUS染色液。

保存条件

1. X-Gluc -20℃避光保存, X-Gluc溶解液室温保存, GUS染色缓冲液4℃保存。未配制的试剂盒按照温度贮存, 有效期2年。
2. 配制好的X-Gluc溶液(50 \times) -20℃避光保存30天, 长期-80℃保存。

操作步骤

一、X-Gluc 溶液(50×)的配制:

1. 低速离心 X-Gluc 粉末, 然后吸取所有 X-Gluc 溶解液加入到 X-Gluc 管中, 低速涡旋至粉末完全溶解, 即配成 X-Gluc 溶液(50×), 根据单次用量, -20℃避光保存。

【注】: X-Gluc 溶液(50×)稳定性较差, -20℃避光保存 30 天左右溶液保持无色, 长期保存建议按照单次使用量分装到棕色管中, -80℃避光保存。正常的 X-Gluc 溶液(50×)呈无色, 若溶液变为红色或棕色, 说明其失效。

二、GUS 染色工作液的配制:

请按照以下比例, 混合配制 GUS 染色工作液, 建议现用现配, 短期贮存可以-20℃保存 2-3 天。

组分	GUS 染色工作液配制总量		
	1 ml	5 ml	10 ml
X-Gluc 溶液(50×)	20 μl	100 μl	200 μl
GUS 染色缓冲液	1 ml	5 ml	10 ml

三、GUS 染色步骤:

1. 取材: 将根茎、叶片、花瓣等组织剪成小片, 放到1.5ml离心管中。

【注】: 染色用植物材料的制备方法根据特定组织和器官的类型不同而各有差异。例如, 对于拟南芥的根、花、叶片, 以及烟草幼苗的根就可以不做任何预处理而直接染色。但是对于烟草和马铃薯的茎和叶就必须先剪切成薄片(约1-3mm)再进行染色。当操作更大的组织样品时, 可以选用真空渗透法来促进染色工作液渗入细胞。

2. 染色: 加入适量配制好的GUS染色工作液, 以完全覆盖材料为准。同时设置阴性和阳性对照实验。锡箔纸包好后37℃孵育1~24h。随着孵育时间的延长, 蓝色渐渐出现, 当表达量较高时, GUS 活性的部位或位点呈现蓝色或蓝色斑点。

3. 脱色: 将染色好的材料转入无水乙醇或80%丙酮中脱色2-3次, 直至阴性对照材料为白色。GUS染色阳性的蓝色斑点非常稳定, 在酒精中不会褪色。

4. 观察: 一般染色后, GUS染色阳性的蓝色斑点肉眼就能观察到。但是有些材料可能蓝色斑点很细微, 需要在显微镜下才能观察到, 白色背景上的蓝色斑点即为GUS表达位点。

注意事项

1. GUS 染色工作液最好现用现配，短期贮存可以-20℃保存 2-3 天。
2. X-Gluc 溶液(50×) 应避免反复冻融，否则染色效率会下降，因此建议按照单次使用量分装贮存。
3. 由于植物组织特异性等原因，蓝色颜色反应可能不完全相同，请根据实际情况摸索具体的实验条件，调整样品制备方法和染色时间。对于拟南芥的根、花、叶片，以及烟草幼苗的根就可以不做任何预处理而直接染色。但是对于烟草和马铃薯的茎和叶就必须先剪切成薄片（约 1-3mm）再进行染色。当操作更大的组织样品时，可以选用真空渗透法来促进染色工作液渗入细胞。
4. 为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。