

高斯萤光素酶报告基因检测试剂盒(辉光型高亮版)

产品编号: **PWL210** 规格: **100T/ 1000T**

产品内容

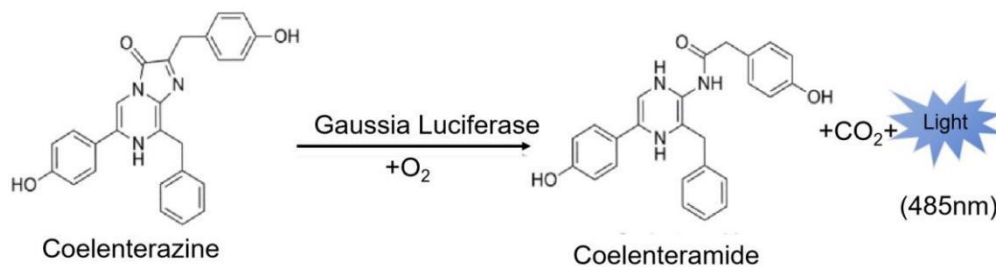
产品组成	PWL210-1 100T	PWL210-2 1000T
Gaussia Glow-Bright Assay Buffer	5mL	50mL
Gaussia Glow-Bright Assay Substrate (100×)	50μL	500μL
Cell Lysis Buffer (5×)	5mL	50mL
说明书	1 份	1 份

产品简介

高斯萤光素酶报告基因检测试剂盒(辉光型高亮版)提供一种高灵敏度及信号稳定的检测系统, 具有更高灵敏度和发光信号稳定的特点, 发光强度最高可达30万以上, 半衰期最长可达5小时以上, 符合高通量检测的需求。同时高斯萤光素酶(Gaussia Luciferase, 185 AA, 19.9 kDa)是一种分泌型萤光素酶, Gaussia Luciferase 质粒转染细胞后, 大部分 Gaussia Luciferase 可以分泌到细胞外, 所以本试剂盒既可以用于细胞培养上清样品的检测, 也可以用于细胞裂解样品或纯化的酶的检测, 特别适用于酶活性的实时研究。

Gaussia Luciferase 产生的生物发光信号原理是腔肠素(Coelenterazine)的氧化反应, 该反应不需要ATP或其他辅助因子。

反应原理如下:



使用方法

(一) 自备材料

PBS; 多道排枪; 白色或黑色不透光培养板; 化学发光仪或带发光检测功能的酶标仪。

(二) 检测前准备

1. 预先将 Gaussia Glow-Bright Assay Buffer 放置于室温融化。
2. 取出 Gaussia Glow-Bright Assay Substrate (100×), 每次开盖前需进行短暂涡旋、低速离心。



3. Working Solution 的配制：按照检测每个样品需要50 μ L Working Solution的量，根据实际使用量，以100:1的比例将适量的 Gaussia Glow-Bright Assay Buffer 与 Gaussia Glow-Bright Assay Substrate (100 \times) 混匀，平衡至室温，避光备用。例如：如果需要5mL Working Solution，则需要在5mL Gaussia Glow-Bright Assay Buffer 中加入50 μ L Gaussia Glow-Bright Assay Substrate。

注：①建议现配现用，剩余Working Solution在当次实验结束后直接舍弃，不要留存。

②得到最佳检测结果，Working Solution配制后在1小时内进行检测。

(三) 检测方法

1. 细胞上清样品的检测

(1) 细胞上清样品的准备：根据具体情况，收集转染含 Gaussia 质粒的细胞上清，平衡至室温。将样品加入到不透光培养板中用于检测，如果不能立即检测，可以将收集好的细胞上清放于-20 $^{\circ}$ C保存，至少可保存一个月。

(2) 取恢复至室温的5~20 μ L细胞上清样品加入96孔白板或黑板。

注：①对于同一批样品检测，检测样品体积需统一，这样的检测数据具有更好的可比性，因为样品体积对于最终的化学发光值会产生影响。

②优先推荐使用5 μ L样品，样品体积小化学发光更稳定。

③使用白色或黑色不透光的细胞培养板，减少孔间的信号干扰。

(3) 使用多道排枪向每个细胞孔中加入 50 μ L Working Solution。

(4) 室温(约25 $^{\circ}$ C)孵育10min，使发光信号趋于稳定。

(5) 混匀后于化学发光仪或带发光检测功能的酶标仪中检测 Gaussia Luciferase活性。

2. 细胞裂解样品的检测

(1) 细胞裂解样品的准备：

①1 \times Cell Lysis Buffer 配制：每次使用前以 1: 4 比例将 Cell Lysis Buffer(5 \times) 与 ddH₂O 充分混合，置于冰上备用。配制体积根据实验需求，建议现配现用。

②去除细胞培养液，加入 PBS 清洗细胞，去除 PBS 后按照下表推荐加入适量的 1 \times Cell Lysis Buffer，室温下静置或振动摇晃裂解 15min，吹打并收集全部细胞裂解产物用于后续检测。在光学显微镜下检查细胞是否完全溶解，如果溶解不完全，继续裂解 15 分钟。如果不能立即检测，可以将裂解液样品放于-20 $^{\circ}$ C保存，至少可保存一个月。

Cell Culture Plate	6-well	12-well	24-well	48-well	96-well
1 \times Cell Lysis Buffer	500 μ L	200 μ L	100 μ L	50 μ L	20 μ L

(2) 取恢复至室温的 5~20 μ L 细胞裂解样品加入 96 孔白板或黑板。

注：①对于同一批样品检测，检测样品体积需统一，这样的检测数据具有更好的可比性，

因为样品体积对于最终的化学发光值会产生影响。

- ②优先推荐使用**5 μ L**样品，样品体积小化学发光更稳定。
- ③使用白色或黑色不透光的细胞培养板，减少孔间的信号干扰。
- (3) 使用多道排枪向每个细胞孔中加入 **50 μ L Working Solution**。
- (4) 室温(约25 $^{\circ}$ C)孵育10min，使发光信号趋于稳定。
- (5) 混匀后于化学发光仪或带发光检测功能的酶标仪中检测 **Gaussia Luciferase**活性。

3. 总高斯萤光素酶活性的快速检测

- (1) 将含有转染**Gaussia Luciferase**质粒的细胞的不透光孔板平衡至室温。
- (2) 向孔板内加入与培养基等体积的**Working Solution**。
- (3) 室温(约25 $^{\circ}$ C)孵育10min，使发光信号趋于稳定。
- (4) 混匀后于化学发光仪或带发光检测功能的酶标仪中检测**Gaussia Luciferase**活性。

保存条件

-20 $^{\circ}$ C避光保存，自生产之日起12个月有效。

注意事项

1. 检测仪器选择：能够检测化学发光的仪器都适用本试剂盒的检测，但是针对相同的样品，不同检测器本底信号值和测量值均可能不同；且对于同一样本检测，不同仪器的数值不可横向比较。为防止孔间干扰，推荐使用不透明白色或黑色细胞培养板。

2. 由于发光信号会受到检测环境如培养基组分、温度等影响，所以应确保同组内不同样本检测条件一致。

3. 酶促反应对温度较为敏感，加样检测前务必将**Working Solution**以及细胞培养板平衡至室温。

4. 如需同时检测多个细胞培养板，请尽量确保每个细胞板加入检测溶液后孵育时间一致，再进行数据读取，以此获得最佳的检测结果。

5. 高斯萤光素酶报告基因检测试剂盒(辉光型高亮版)具有高发光信号及发光稳定性，发光强度最大可达30万以上。信号半衰期最长可达5小时以上。当酶表达量过低时，发光信号会降低，但信号稳定性会增强；当酶表达量过高时，信号半衰期会减少，但发光信号会增强。建议根据实际情况优化实验设计方案（如增加/减少质粒转染量），避免萤光素酶表达量过高/低。

6. **Gaussia Glow-Bright Assay Substrate (100 \times)** 配制在无水乙醇中。由于无水乙醇容易挥发，有时会在初次使用时发现体积明显小于包装规格的情况，此时用无水乙醇把体积补足至包装规格，并混匀后即可使用。

Y240601