

# 高斯萤光素酶报告基因检测试剂盒(辉光型稳定版)

产品编号: **PWL211** 规格: **100T/ 1000T**

## 产品内容

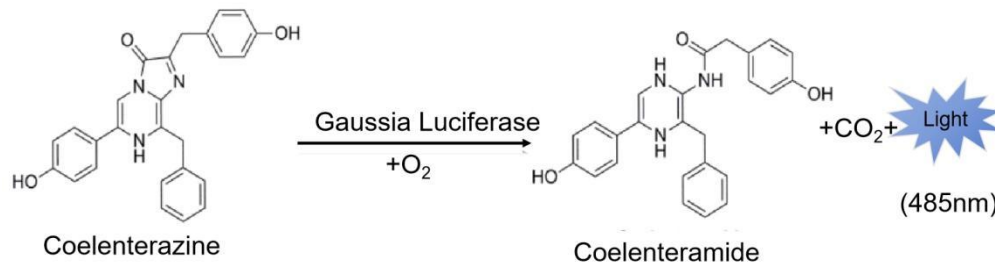
产品组成	PWL211-1 100T	PWL211-2 1000T
Gaussia Glow-Stable Assay Buffer	5mL	50mL
Gaussia Glow-Stable Assay Substrate (100×)	50μL	500μL
Cell Lysis Buffer (5×)	5mL	50mL
说明书	1 份	1 份

## 产品简介

高斯萤光素酶报告基因检测试剂盒(辉光型稳定版)提供一种高信号稳定性的检测系统,具有高灵敏度和发光信号稳定的特点,半衰期最长可达7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; 白色或黑色不透光细胞培养板; 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-Stable Assay Buffer 放置于室温融化。
2. 取出 Gaussia Glow-Stable 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 $\mu$ L Working Solution的量，根据实际使用量，以100:1的比例将适量的 Gaussia Glow-Stable Assay Buffer 与 Gaussia Glow-Stable 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 $\mu$ L Gaussia Glow-Stable 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 为得到最佳检测结果，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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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ddH<sub>2</sub>O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，吹打并吸取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 $\mu$ L	200 $\mu$ L	100 $\mu$ L	50 $\mu$ L	20 $\mu$ L

(2) 取恢复至室温的 5~20 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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(辉光型稳定版)具有超强信号稳定性，半衰期可达7小时以上。但是当酶表达量过高时，信号半衰期会缩短，建议优化实验设计方案（如减少质粒转染量），避免萤光素酶表达量过高。

6. Gaussia Glow-Stable 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