

高斯萤光素酶报告基因检测试剂盒(闪光型)

产品编号: **PWL212** 规格: **100T/ 1000T**

产品内容

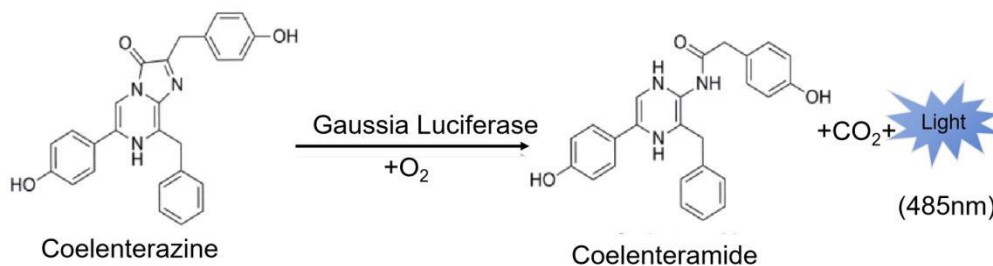
产品组成	PWL212-1 100T	PWL212-2 1000T
Gaussia Flash Assay Buffer	5mL	50mL
Gaussia Flash Assay Substrate (100×)	50μL	500μL
Cell Lysis Buffer (5×)	5mL	50mL
说明书	1 份	1 份

产品简介

高斯萤光素酶报告基因检测试剂盒(闪光型)提供一种高灵敏度的检测系统。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 Flash Assay Buffer 放置于室温融化。
2. 取出 Gaussia Flash 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50μL Working Solution的量，根据实际使用量，以100:1的比例将适量的 Gaussia Flash Assay Buffer 与 Gaussia Flash Assay Substrate (100×) 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50μL Gaussia Flash 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℃保存，至少可保存一个月。

(2) 取恢复至室温的 5~20μL 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20μL样品，样品体积大化学发光信号更高。

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 50μL Working Solution。

(4) 立即检测。

2. 细胞裂解样品的检测

(1) 细胞裂解样品的准备：

①1× Cell Lysis Buffer 配制：每次使用前以 1: 4 比例将 Cell Lysis Buffer(5×) 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× 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℃保存，至少可保存一个月。

Cell Culture Plate	6-well	12-well	24-well	48-well	96-well
1× Cell Lysis Buffer	500μL	200μL	100μL	50μL	20μL

(2) 取恢复至室温的 5~20μL 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20 μ L样品，样品体积大化学发光信号更高。
- 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) 立即检测。

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. 高斯萤光素酶报告基因检测试剂盒(闪光型)具有高发光信号特点，发光强度最大可达100万以上。但当酶表达量过低时，发光信号会降低。建议根据实际情况优化实验设计方案（如增加质粒转染量），避免萤光素酶表达量过低。

5. Gaussia Flash 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。