

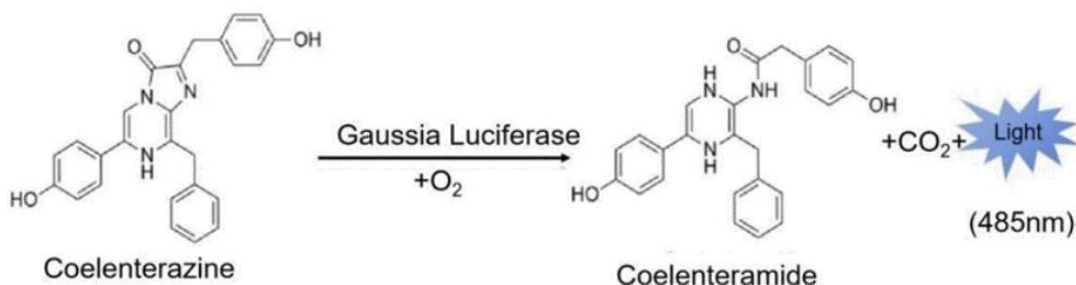
高斯萤光素酶报告基因检测试剂盒（辉光高亮型）

产品简介:

高斯萤光素酶报告基因检测试剂盒（辉光高亮型）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:



组分表:

R43794	Component	1000T	Storage
R43794-A	Gaussia Glow-Bright Assay Buffer	50 mL	-20℃.Store in the dark.
R43794-B	Gaussia Glow-Bright Assay Substrate (100×)	500 μ L	-20℃.Store in the dark.
R43794-C	Cell Lysis Buffer (5×)	50 mL	-20℃.Store in the dark.

使用说明:

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 50μL Working Solution 的量, 根据实际使用量, 以 100:1 的比例将适量的 GaussiaGlow-Bright Assay Buffer 与 Gaussia Glow-Bright 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 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℃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 5μL 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：

① 1 $\times$ 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