

Promega's Steady-Glo® 萤光素酶检测试剂盒



在 Modulus 多功能光度计上的应用

1. 应用说明

Turner BioSystems 的 Modulus 多功能光度计与 Promega's Steady-Glo® 的检测试剂盒连用为萤光素酶报告基因系统中的基因表达定量提供了一种非常简便的方法。同时萤光素酶报告基因系统中的转录调控也常常被用于研究细胞的整个培养过程中的生理情况。

Steady-Glo 试剂的发光半衰期大约为 5 小时, 光信号能在加入试剂后 5min 到数小时之间都能检测到。同时 Steady-Glo 试剂应该与哺乳动物细胞培养基 (RPMI 1640, MEMa, DMEM and Ham's F12) 相匹配, 并且不会受到酚红和有机溶剂的影响。

用具发光检测功能的 Modulus 多功能光度计检测时, 萤光素酶的检测线性范围为 1×10^{-18} - 1×10^{-11} mol 或几个数量级 (图 1)。实验由 Steady-Glo 萤光素酶检测试剂盒 (Promega 货号 # E2520) 来完成, 重组的萤火虫萤光素酶纯化, 也用 Promega 产品 (Promega 货号 # E1701)。

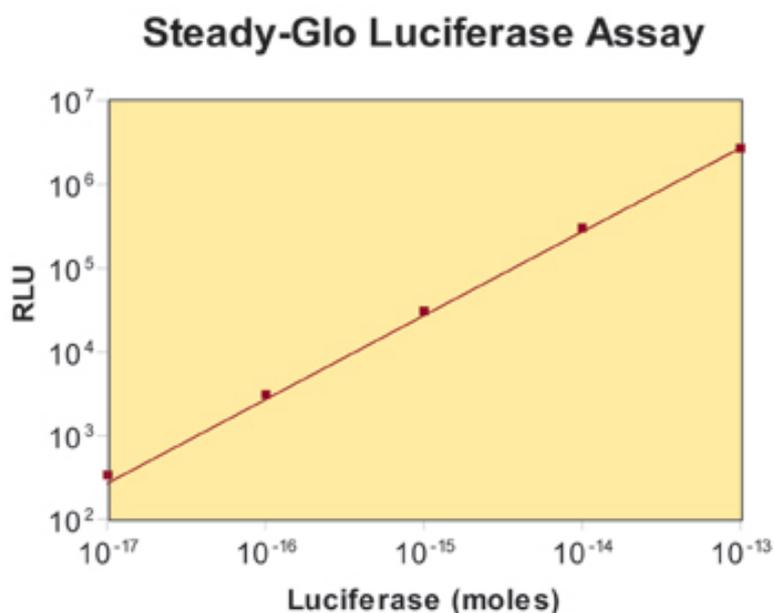


图 1 用 Modulus 多功能光度计与 Promega 的 Steady-Glo 试剂盒和重组萤光素酶检测所得结果。

2. 所需器材

- 具有发光检测模块的 Modulus 多功能光度计 (货号 9200-001 或 9200-002)
- 1.5ml 微型离心管
- Steady-Glo 萤光素酶检测试剂盒 (Promega 货号 E2510, E2520, E2550)
- p200 移液器和匹配枪头

3. 实验方案

3.1 试剂制备

Steady-Glo 底物: 使用所提供的底物, -20°C 下可稳定储存 6 个月; 4°C 下可储存 1 个月。

Steady-Glo 缓冲液: 使用所提供的缓冲液, 储存在 25°C 以下的环境条件下。

Steady-Glo 试剂: 将整瓶 Steady-Glo 缓冲液加入 Steady-Glo 底物瓶中, 颠倒混匀使底物彻底溶解, 使用试验当天配制的试剂, 或者将配好试剂储存在 -20°C 冰箱中, 可储存 2 周。

注: 在检测时, Steady-Glo 试剂应当维持在室温, 因为荧光素酶的活性对温度比较敏感, 配制后冻存的试剂应当在低于 25°C 条件下溶解, 以确保试剂的性能, 并且融化后还应充分混匀。一种最简单的方法就是将试剂在室温水浴下溶解。

3.2 仪器安装

3.2.1 关闭 Modulus 多功能光度计电源, 根据操作手册安装发光检测模块。

3.2.1 打开 Modulus 多功能光度计电源, 打开后立即倒计时 5min, 让 Modulus 多功能光度计预热。

3.2.2 预热后, 进行样品检测, 仪器默认的方案是 1s 的检测时间。

3.3 样品分析

3.3.1 从培养箱或其他培养仪器中取出培养的细胞。

注: 为了获得最大的实验数据, 加入试剂前应将培养细胞平衡至室温

3.3.2 向细胞培养液中加入等体积的 Steady-Glo 试剂。

3.3.3 静止 5min 使细胞充分裂解, 然后将样品转移到 1.5ml 微型管中。

3.3.4 将微型管插入模块中, 点击"Measure Luminescence"菜单开始检测。

3.3.5 记录下相对光强度检测结果, 并且仪器能在显示屏上最多可显示出最近 20 个检测结果。

4. 有关 PROMEGA 公司

Steady-Glo 为 Promega 公司注册商标, 在美国注册, 有自己的专利权。可通过以下方式订购:

Phone: (800) 356-9526

Fax: (800) 356-1970

E-mail: custserv@promega.com

Internet: www.promega.com

Mailing Address:

Promega Corporation

2800 Woods Hollow Rd.

Madison, WI 53711
USA

5. 有关 Turner Biosystems 公司

Modulus 是 Turner Biosystems 公司的一个商标, 订购 Turner Biosystems 公司产品联系方式如下:

电话: (408) 749-0994 或免费的: (877) -316-8049 (美国和加拿大)

传真: (408) 737-7919

邮箱: sales@turnerbiosystems.com

网址: <http://www.turnerbiosystems.com>

通信地址: Turner BioSystems, Inc. 845 W. Maude Avenus Sunnyvale, CA 94085 USA

注意: 冻干的底物含有二硫苏糖醇 (DTT), 是危险品。配好的试剂中 DTT 浓度小于 1% 时是否有危险还不清楚, 因此我们建议在用这些试剂或任何化学试剂时, 要戴手套、穿工作服, 并且进行眼睛的保护。Promega 和 Turner BioSystems 对于接触这些产品或处理这些产品所带来的伤害不负任何责任。

Turner Biosystems 中国区独家代理—北京原平皓生物技术有限公司

地址: 北京市海淀区北四环西路67号大地科技大厦1112室

邮编: 100080

电话: 010- 82888900

传真: 010-82888716

网 址: <http://www.yph-bio.com>

E-mail: order@yph-bio.com



TURNER BIOSYSTEMS, Inc.
845 W. Maude Avenue - Sunnyvale, CA 94085
408.749.0994 • Toll free: 877.316.8049 • Fax: 408.749.0998
Visit us on the Internet at www.turnerbiosystems.com