

# Bright-Glo<sup>®</sup> 荧光素酶检测试剂盒

## 在 GloMax<sup>®</sup> 96 微孔板发光检测仪上的应用



### 1. 应用说明

GloMax<sup>®</sup>96 微孔板发光检测仪和Bright-Glo<sup>™</sup>荧光素酶试剂盒联合使用提供了一种方便、快速且灵敏的定量基因表达的方法。转录调控和荧光素酶报告基因耦联表达，被用在研究培养细胞的生物学领域。荧光素酶是理想的报告基因，因为哺乳动物细胞中不含有内源性荧光素酶，转录完成立刻就生成功能性的荧光素酶。

Bright-Glo<sup>™</sup>荧光素酶检测系统的荧光素酶检测具有较高的灵敏度，同时由于其超强的光信号和超高的信噪比，该系统被广泛使用在生命科学研究领域。Bright-Glo<sup>™</sup>试剂与细胞培养中的常用培养基兼容，如RPMI 1640, MEM, DMEM, and Ham's F12。

GloMax<sup>®</sup>96 微孔板发光检测仪独特的光学系统使Bright-Glo<sup>™</sup>荧光素酶分析系统的检测灵敏度更高，线性范围更广，最低可以检测到 $1 \times 10^{-19}$  mol 荧光素酶分子。检测线性范围从 $1 \times 10^{-19}$  到  $3 \times 10^{-11}$  mol 荧光素酶，大于8 个数量级（图1）。所有的检测均采用Bright-Glo<sup>™</sup>荧光素酶检测系统(Promega Catalog# E2620)和纯化的重组萤火虫荧光素酶(Promega Catalog# E1701)。

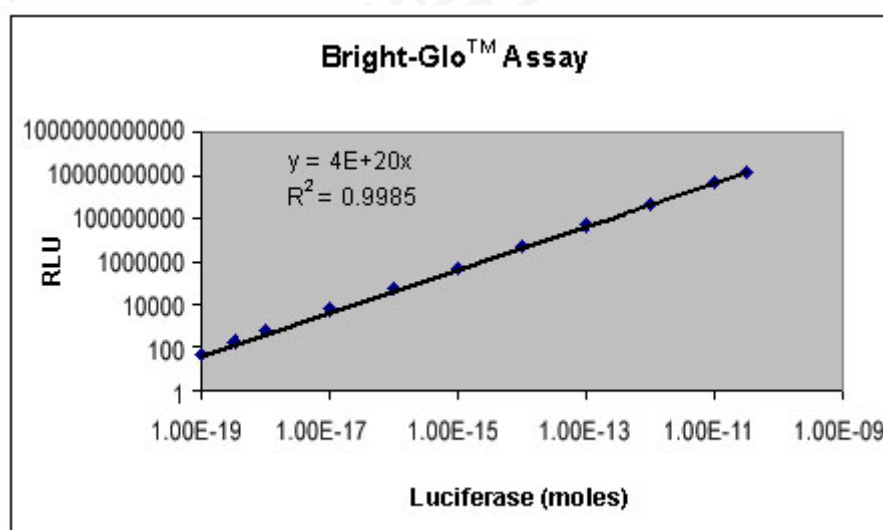


图 1: Bright-Glo<sup>™</sup>试剂盒在GloMax<sup>®</sup>96 微孔板发光检测仪上检测结果

### 2. 所需器材

- [GloMax<sup>®</sup> 96微孔板发光检测仪](#)
- 96 孔白板(E&K Scientific EK-25075)
- Bright-Glo<sup>™</sup>荧光素酶检测系统(Promega Catalog #s E2610, E2620, E2650).
- P200 移液器和枪头

### 3. 实验方案

#### 3.1 试剂制备

- a) Bright-Glo™底物，使用所提供产品，-20℃储存，6个月。底物也可以储存在4℃ 1个月。
- b) Bright-Glo™缓冲液：使用所提供产品，低于25℃储存。
- c) Bright-Glo™试剂：将Bright-Glo™缓冲液倒入Bright-Glo™底物中配置Bright-Glo™反应试剂，颠倒混匀，直到底物彻底溶解。配好试剂最好当天使用，也可以将配好试剂分装成工作体积-20℃储存2周。

**注意：**因为荧光素酶活性受温度影响，在定量发光检测过程中，Bright-Glo™试剂应始终保持室温。混合试剂冻存后再次使用，为确保试剂性能，应在低于25℃条件下溶解。溶解后充分混匀，最简单的方法是室温水浴溶解。

#### 3.2 仪器安装

- a) 双击GloMax 96图标运行软件。
- b) 从"Welcome to GloMax 96"对话框中点击"Run Promega Protocol"。
- c) 从Promega 预设程序中选择" BrightGlo "。
- d) 在"Main Dialog Box"中点击"Options"，选择需要检测的孔，修改检测次数；同时也可以可以在"Other Options"中修改检测时间，修改结束点击"Apply Changes"，返回"Main Dialog Box"窗口。
- e) 在"Main Dialog Box".中输入个人信息，例如"Experiment", "Operator", "Plate No.", and "Notes"

#### 3.3 样品分析

- a) 从培养箱中取出含有培养基的96孔板。  
**注意：**为了尽可能获得数据重现性。加入试剂前，应室温下平衡细胞培养基。
- b)
  - A. 如果细胞裂解，加入与孔中培养基或者细胞裂解液等量的Bright-Glo™®工作液混合后检测萤火虫荧光素酶活性，对于96孔板，100ul 的细胞培养基中加入100ul 检测试剂。重复步骤3.3.3。
  - B. 如果细胞未裂解，加入与孔中培养基等量的Bright-Glo™®工作液混合后检测萤火虫荧光素酶活性，对于96孔板，100ul 的细胞培养基中加入100ul 检测试剂，至少等待2min使细胞彻底裂解，重复步骤3.3.3。
- c) 将板放入GloMax 96微孔板发光检测仪中，点击“Start”开始检测，检测结束后，所有需要检测的样品检测结果会以Excel 表格形式显示，如检测中遇到其他问题，请参考问题导读获取更多信息
- d) 检测结束就可以通过Excel 进行数据分析。
- e) 检测结束后，确保从仪器中取出96孔板。

### 4. 关于 GloMax®96 微孔板发光检测仪

GloMax®96 微孔板发光检测仪是一款专门用于生物发光与化学发光检测的微孔板型发光检测仪。GloMax®96 微孔板发光检测仪发光检测仪具有极高的检测灵敏度( $3 \times 10^{-21}$  moles 荧光素酶)和极宽的检测范围 (>9 数量级)，可以满足各种发光检测的需求。

## 5. 参考文献

1. Ow, D.W. et al. (1986) Transient and stable expression of the firefly luciferase gene in plant cells and transgenic plants. *Science* 234, 856—9.
2. De Wet, J.R. et al. (1987) Firefly luciferase gene: structure and expression in mammalian cells, *Mol. Cell. Biol.* 7, 725—37.