

# Neo-Glo<sup>®</sup> 微分裂荧光素酶活细胞检测试剂盒

## Neo-Glo<sup>®</sup> Nanoluc Live Cell Assay Kit



### 产品规格

产品货号	规格	组分	可检测 96 孔板数	可检测 384 孔板数
HDS003.10	10 ml	10 mL 缓冲液 100 $\mu$ L 底物	330 wells	1,000 wells
HDS003.100	100 ml	100 mL 缓冲液 1 mL 底物	3,300 wells	10,000 wells
HDS003.500	500 ml(5x100 ml)	500 mL (5 $\times$ 100 mL) 缓冲液 5 $\times$ 1 mL 底物	16,500 wells	50,000 wells
HDS003.1000	1000 ml(10x100 ml)	1000 mL (10 $\times$ 100 mL) 缓冲液 10 $\times$ 1 mL 底物	33,000 wells	100,000 wells

### 保存条件

Neo-Glo<sup>®</sup> 微分裂荧光素酶活细胞检测试剂盒于-20 $^{\circ}$ C或以下储存。冻融次数避免超过3次以上。加了底物的缓冲液可于4 $^{\circ}$ C保存不超过2小时。检测工作液最好现配现用。

### 检测原理

利用微分裂荧光素酶技术(Nanoluc split enzyme technology), 荧光素酶蛋白分子被拆分为两个片段并分别表达。这两个片段具有高亲和力, 在同一反应体系中能够迅速自动结合, 形成具有活性的完整酶分子。反应体系的两个酶片段分别克隆在两个表达载体上, 并分别与两个目标蛋白表达在同一分子上, 作为两个目标蛋白分子的标签。然后将两个表达载体同时转染细胞, 一段时间后检测载体共转染后的细胞内荧光素酶活性, 可以用于细胞内两个目标蛋白的表达水平, 相互作用, 动态变化等研究。Neo-Glo<sup>®</sup> 微分裂荧光素酶活细胞检测试剂盒提供了反应缓冲液和能进入细胞内的反应底物。

### 实验步骤

1. 在96孔或384孔细胞培养板铺合适密度的待检测细胞, 转染合适质粒或带有分裂荧光素酶大小片段标签的目标蛋白表达载体的稳定细胞株 (建议使用白板)。
  2. 根据实验需求对细胞进行相关处理, 并继续培养合适的时间。
  3. 取出检测缓冲液, 在室温平衡20分钟。快速瞬时离心底物管10秒钟, 将内容物收集于管底, 放置在冰盒上。
  4. 取出待测细胞培养板, 在室温下平衡20分钟。
  5. 准备检测试剂: 建议加30  $\mu$ L的检测试剂到96孔板细胞中, 或10  $\mu$ L试剂到384孔板细胞中。根据实验需求确定配制的试剂量。配制时将底物加入缓冲液中, 充分混匀。试剂盒中底物是100 $\times$ , 使用前用缓冲液稀释成1 $\times$ 的检测工作液。注意避光。
  6. 吸去检测孔细胞培养基, 加入30  $\mu$ L的1 $\times$ 检测工作液到每个96孔板检测孔中, 或10  $\mu$ L的1 $\times$ 检测工作液到每个384孔板检测孔中, 轻轻振荡15秒钟。如果是悬浮细胞, 需要将培养板离心后, 仔细吸去培养基, 然后再加入1 $\times$ 检测工作液。
  7. 在luminescence读板上读取荧光信号。保存数据, 进行数据处理分析。
- Note:** 建议在10-30分钟内完成读板以获得最佳结果。
8. 未使用完的试剂放回-20 $^{\circ}$ C冰箱保存。

## 注意事项 (仅供参考)

---

1. 非经严格验证, 不建议随意改变反应试剂用量。
2. 如果需要板间数据比较, 建议在所有反应板均设立两孔未加化合物的阳性对照作为板间内参, 用板间内参读数对每块板读数先进行纠正 (normalization), 纠正后的数据再进行下游处理分析。
3. 荧光读数高低可能对临近周围孔读数形成明显干扰, 主要是荧光信号外溢。必要时可以使用透明底的白色微孔板进行实验或验证。这种板的设计可以有效减少孔间的光信号干扰, 同时保持较高的检测灵敏度。
4. 不建议不同批次的试剂混合使用。
5. 分装储存反应试剂, 保证试剂的稳定性。

试验中请穿着试验服并带手套做好防护工作。请按实验室安全操作规范进行实验。

本试剂**仅供科研使用**, 请勿用于临床诊断或其他治疗用途。

V02/25