

Neo-Glo® 微分裂荧光素酶检测试剂盒 (胞外型)

Neo-Glo® HiBiT Detection Assay Kit (Extracellular)



产品规格

产品货号	组分	可检测 96 孔板数	可检测 384 孔板数
HDS002.10	10 mL 缓冲液 100 μ L 底物	100 wells	500 wells
HDS002.100	100 mL 缓冲液 1 mL 底物	1,000 wells	5,000 wells
HDS002.500	500 mL(5 $\times$ 100 mL) 缓冲液 5 mL(5 $\times$ 1 mL) 底物	5,000 wells	25,000 wells
HDS002.1000	1000 mL(10 $\times$ 100 mL) 缓冲液 10 mL(10 $\times$ 1 mL) 底物	10,000 wells	50,000 wells

保存条件

Neo-Glo® 微分裂荧光素酶检测试剂盒 (胞外型) 于-20℃或以下储存。避免冻融次数超过3次以上。加了底物的裂解缓冲液可于4℃保存不超过2小时。检测工作液需要现配现用。

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。通过检测微分裂荧光素酶的活性, 可以对细胞内目标蛋白的表达水平、相互作用及动态变化进行研究。在反应体系中, 分裂荧光素酶的小片段被克隆到表达载体上, 并与目标蛋白在同一分子上表达, 作为目标蛋白的标签。带有分裂荧光素酶小片段标签的目标蛋白表达载体由用户自行构建、制备, 并转染细胞。Neo-Glo® 微分裂荧光素酶检测试剂盒 (胞外型) 提供了细胞非裂解缓冲液和反应底物, 分裂酶大片段需由客户自行准备。

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, 转染合适的质粒或带有分裂酶荧光素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1 $\times$ 检测试剂: 根据实验需求确定配制的试剂量。配制时将需要的底物及分裂酶大片段按量比加到缓冲液中, 充分混匀。请注意避光。本试剂盒中, 底物是100 $\times$, 建议客户准备50 $\times$ 的分裂酶大片段, 使用前用缓冲液稀释成的检测工作液。

Note: 分裂酶大片段需由客户自行准备, 最佳浓度需要优化。

6. 加等体积 1 $\times$ 的检测工作液到 96 或 384 孔板细胞中, 轻轻振荡 30 秒钟。
7. 在luminescence读板仪上读取荧光信号。保存数据, 进行数据处理分析。

Note: 建议在5-30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℃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, 试剂量不要低于检测前实际培养液的体积。对96孔培养板而言, 建议检测前实际培养液体积为50-100 μ L/孔, 必要时可以适当调整。如果待检测目标蛋白是跨膜蛋白, 也可以吸去培养液, 直接加入1 $\times$ 的检测工作液进行检测。
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