

货号	名称	规格	存储
W501-100T	Gluc/SEAP 分泌型双荧光素酶报告基因试剂盒	100T	按要求存放
W501-1000T	Gluc/SEAP 分泌型双荧光素酶报告基因试剂盒	1000T	

产品简介

本试剂盒基于高斯荧光素酶 (Gluc)与分泌型碱性磷酸酶 (SEAP)双分泌型报告基因系统开发，无需裂解细胞，可直接检测细胞培养上清；当用于动物体内报告基因检测时，无需处死动物，只需取动物血清样本进行检测。通过两种分泌型标记蛋白同步表达，实现双靶点同步定量检测，广泛应用于启动子活性分析、信号通路研究、基因表达调控、药物筛选及细胞分泌功能机制研究等场景。

核心原理是 Gluc 为高活性分泌型荧光素酶，以腔肠素为底物，催化产生发光信号，信号强度精准对应靶基因转录表达水平；SEAP 作为经典分泌型内参报告基因，可稳定持续表达，消除细胞数量、转染效率、实验操作误差，动物个体表达差异等干扰；Gluc/SEAP 均可自主分泌至细胞培养液上清或实验动物外周血，无需破碎细胞，且支持动物活体连续、动态、无创、多次取样检测。

产品组成

组分编号	组分名称	储存	产品规格	
			100T	1000T
W501-A	Gluc Substrate (100x)	-20℃避光	100μL	1mL
W501-B	Gluc Assay Buffer (Glow-type)	-20℃避光	10mL	100mL
W501-C	Gluc Assay Buffer (Flash-type)	-20℃避光	10mL	100mL
W501-D	SEAP Substrate (10x)	2-8℃避光	1mL	10mL
W501-E	SEAP Assay Buffer (Glow-type)	2-8℃避光	10mL	100mL

存储及有效期

W501-A/B/C 冰袋运输，-20℃避光储存，有效期 1 年。

W501-D/E 冰袋运输，2~8℃避光保存，有效期 1 年。

使用方法

一. Gluc 检测部分

1. 从冰箱取出 Gluc Assay Buffer (Glow-type)或 Gluc Assay Buffer (Flash-type) 置于室温融化，并上下颠倒 3-5 次混匀备用。

【注意】：本试剂盒提供两种用于 Gluc 分析的缓冲液。Gluc Assay Buffer (Glow-type) 含有稳定剂，弥补了 Gluc 信号快速衰退的缺点，可用于稳定活性分析；而 Gluc Assay Buffer (Flash-type) 则适用于检测低表达量的 Gluc 活性，可以提供更高的灵敏度。Flash-type 缓冲液中 Gluc 的活性比 Glow-type 缓冲液中高数倍，但是 Glow-type 缓冲液

本产品仅限科研。

中的 Gluc 的活性更稳定。实验开始 10 分钟内近 90%的信号可被捕获，但在同一时间内，Flash-type 缓冲液中 Gluc 的活性已降至不到 40%。因此，我们建议先使用 Gluc Assay Buffer (Glow-type) 缓冲液检测 GLuc 的活性，特别是高通量筛选。如果 GLuc 的活性太低，则可以考虑使用 Gluc Assay Buffer (Flash-type) 缓冲液。

2. 从冰箱取出 Gluc Substrate (100x)，每次开盖前需进行短暂涡旋、低速离心。

3. Gluc 检测工作液的配制：例如，10 个样品，检测每个样品需要 100 μ L 工作液。即吸取 10 μ L 的 Gluc Substrate (100x) 加入到 1mL 的 Gluc Assay Buffer 缓冲液中，并充分混匀。

【注意】：①建议现配现用，剩余 Gluc 检测工作液在当次实验结束后直接舍弃，不要留存。

②Gluc Substrate (100x) 配制在无水乙醇中。由于无水乙醇 容易挥发，有时会在初次使用时发现体积明显小于包装规格的情况，此时用无水乙醇把体积 补足至包装规格，并混匀后即可使用。

4. 细胞已转染 Gluc/SEAP 报告基因质粒或实验动物体内已被 Gluc/SEAP 报告基因质粒或 AAV 病毒侵染。收集 0.1-0.2mL 待测细胞培养上清液或动物血清装到 1.5mL 离心管里，恢复至室温。

5. 用移液器吸取 5~20 μ L 待测样品（设置 2-3 复孔/样）分别加到 96 孔白色（不透光）或黑色的微孔板。

6. 用多道移液器按照 100 μ L/孔向待测样本孔内加入预先配好的 Gluc 检测工作液。根据仪器说明书设置测试条件，一般设定酶标仪震荡后检测，检测时间为 1-3 秒。

【注意】！！

①如果使用的是 Gluc Assay Buffer (Glow-type) 缓冲液，在加入 Gluc 检测工作液后，需要室温孵育 5-10 分钟，待信号稳定再进行读板检测！

②如果使用的是 Gluc Assay Buffer (Flash-type)缓冲液，加入 Gluc 检测工作液后，需在 2 分钟内立即进行读板检测，从而减少信号衰减！ 也可以选用配备自动进样器的酶标仪，降低孔间差异，特别适合检测闪光型发光。

7. 记录并导出数据。

二. SEAP 检测部分

1. 实验前从冰箱取出 SEAP Substrate (10x) 和 SEAP Assay Buffer (Glow-type)平衡至室温，分别颠倒混匀。

2. SEAP 检测工作液的配制：例如，10 个样品，检测每个样品需要 100 μ L 工作液。即吸取 100 μ L 的 SEAP Substrate (10x) 加入到 1mL 的 SEAP Assay Buffer (Glow-type) 缓冲液中，并充分混匀。

3. 从上述待测细胞培养上清液或动物血清的样品中，吸取 40~50 μ L 样品置于新的 1.5mL 离心管中，65 $^{\circ}$ C 加热 10-15 分钟，然后置于冰上备用。

4. 用移液器吸取 5~20 μ L 加热处理过的待测样品（设置 2-3 复孔/样）分别加到另外的 96 孔白色（不透光）或黑色的微孔板。此处孔板的分组设定要与前序 Gluc 检测组一一对应，便于后续数据处理！

5. 用多道移液器按照 100 μ L/孔向待测样本孔内加入预先配好的 SEAP 检测工作液，并室温孵育 10 分钟。

6. 放入酶标仪进行检测。根据仪器说明书设置测试条件，一般设定酶标仪震荡后检测，检测时间为 1-3 秒。

7. 记录并导出数据。

三. 数据标准化处理

当在多个转染细胞样本或者动物血清样本中比较 Gluc 的活性，请使用 SEAP 作为内参进行信号标准化。即 Gluc /SEAP 的发光信号(RLU)的比率，可以更精确地反映真实的生物学事件。

【关于发光信号】：

- 1) 发光信号受培养基条件、动物个体差异，给药类型等实验条件的影响。使用不同的酶标仪测的 RLU 的数值可能有所不同。
- 2) 当设定多个时间采样点时，样品应保存于-20℃或-80℃，荧光素酶的活性在一个月内相对稳定。
- 3) 如果 Gluc 或 SEAP 发光信号（RLU）超出酶标仪检测限，则需要稀释样品，保证 Gluc 和 SEAP 的数据可读性。Gluc 和 SEAP 检测的样本稀释比可以不同，但是要保证同一 Gluc 组或 SEAP 组内的样本稀释比和检测条件要一致！