

GUS 报告基因定量检测试剂盒 使用说明书

产品编号: SL7161

产品储存: -20 °C保存, 一年有效。

产品组成:

产品组成	SL7161-50T	SL7161-100T
提取液	50 mL	100 mL
4-MU (1mM)	1 mL	1 mL×2
4-MUG 底物液	10 mL	10 mL×2
终止液	100 mL×2	100 mL×4
说明书	1 份	

产品说明:

GUS 能与 4-MUG 反应产生荧光物质 4-MU。4-MU 的激发波长为 365 nm, 发射波长为 456 nm。其含量可由荧光分光光度计测出。因此, 我们可以根据单位质量的植物总蛋白在单位时间内产生的荧光物质的多少来定量的检测 GUS 的含量。

荧光分光光度计测定的是相对值, 因此用荧光分光光度计测定时必须用标准物 4-MU 进行校准。

使用方法:

一、植物总蛋白提取

1. 取新鲜的植物组织 100 mg 左右, 用液氮将材料急速冷冻, 然后采用液氮研磨的方式在研钵里磨碎组织。如果无法不立即研磨, 可以先将液氮冷冻处理的植物组织储存于-80 °C冰箱。
2. 将研磨破碎的组织转到 EP 管里, 并立即加入 1 mL 的**提取液**, 充分混匀。
3. 12 000 rpm, 4 °C离心 10 min。
4. 将上清转至另一洁净的 EP 管, 12,000 rpm, 4 °C离心 10 min。
5. 所得上清即为蛋白提取物, 可以置于冰上待用, 或者-80 °C保存。

二、蛋白浓度的测定（Bradford 法）

参照本公司产品 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒（SK1060）使用说明书。

三、标准溶液配制

用终止液稀释 4-MU，建议稀释至浓度 1-10 μ M，即为标准液（避光放置）。用于标准曲线绘制。

四、GUS 表达水平的定量测定

1. 在 3 个 1 mL 的离心管中分别加入 900 μ L 的终止液，置于 37 $^{\circ}$ C 温浴。
2. 取 150 μ L 蛋白提取物，加入 150 μ L 4-MUG 底物液，37 $^{\circ}$ C 温浴，即为反应液。
3. 分别在 10 min，20 min，30 min 时，从上述反应体系中，取 100 μ L 加入步骤 1 中温浴的 900 μ L 终止液中，避光放置直至测量结束。
4. 用标准液的荧光值校准反应液中生成的 4-MU 的荧光值。
5. 计算 GUS 的活性 MU/min/ μ g 总蛋白。