

QT-Blue™ 分泌型碱性磷酸酶检测试剂盒说明书

(Q3001, Q3002)

一. 产品描述

分泌型碱性磷酸酶 (SEAP) 被广泛应用于报告基因分析研究。其优势是只需要采取细胞培养上清液分析即可, 不需要裂解细胞。同时, SEAP 比较耐高温处理, 也对一些特异性的碱性磷酸酶抑制剂耐受度比较高, 如此, 样本可以进行特定的预处理, 灭活掉内源性的碱性磷酸酶以排除干扰。

友波生物利用专有的技术成功开发出 QT-Blue™ 分泌型碱性磷酸酶检测试剂盒。该试剂盒为均质即用型 (Homogeneous ready for use) 试剂, 通过“加入-混合-检测”简单步骤完成检测。QT-Blue™ 分泌型碱性磷酸酶检测试剂盒用于检测带分泌型碱性磷酸酶报告基因转染的细胞的培养液中的碱性磷酸酶活性, 不需要裂解细胞, 细胞可以继续培养或用于其它多重分析。相对于国外品牌同类产品, QT-Blue™ 分泌型碱性磷酸酶检测试剂盒检测灵敏度提高至少一倍以上, 同时反应时间缩短至少一倍以上, 尤其适合于低酶活性细胞分析及抑制性化合物的筛查。

二. 产品组成

缓冲液与底物灌装于试剂瓶及螺旋盖管中, 规格如下:

| 产品目录号 | 缓冲液 | 底物 | 可检测 96-孔板的孔数 | 可检测 384-孔板的孔数 |
|--------------|-----------|----------------|--------------|---------------|
| Q3001 | 5x 2.5 ml | 5x 400 μ l | 2,500 | 12,500 |
| Q3002 | 5x 25 ml | 5 x 4ml | 25,000 | 125,000 |

三. 实验步骤

1. 根据实验设计, 将表达 SEAP 报告基因的细胞铺于 96 孔或 384 孔反应板。如细胞培养基中含有 FBS, 应使用 56°C, 30 分钟灭活的 FBS 以灭活 FBS 中可能含有的碱性磷酸酶。
2. 根据实验要求对细胞进行化合物处理及报告基因刺激。
3. 于报告基因刺激后适当时间, 例如 24~48 小时, 收集细胞上清液, 进行 SEAP 活性检测。
4. 实验前将 QT-Blue™ 分泌型碱性磷酸酶检测试剂平衡至室温, 轻摇混匀。缓冲液浓缩液可能呈现微浊状, 无沉淀, 可适当加温, 混匀后稀释使用。
5. 根据需要量配制对应体积的 1x 反应液。试剂盒中的底物为 250x, 缓冲液为 40x, 使用前用无菌纯水将缓冲液配成 1x 缓冲液, 再用 1x 缓冲液将底物稀释成 1x 反应液。
6. 向 96-孔透明检测板每孔加入 20 μ l 检测样本或对照样本, 再向各孔加入 180 μ l 检测试剂。

7. 在振板机上振荡 15 秒钟。
8. 37°C 温育 10~60 分钟，或室温 30~180 分钟。
9. 在分光光度计上读取可见光吸光度，波长为 600~650nm。

四. 储存条件

QT-Blue™ 分泌型碱性磷酸酶检测试剂盒储存于-20°C 及以下性能稳定 1 年。配成的 1x 反应液可在-20°C 保存 1 个月，在 2~8°C 保存 1 周。

五. 注意事项

1. 终点法酶反应需要控制板内孔间加样加试剂的时间差。样本数较多时需要使用排枪或液体工作站加样。
2. 尽可能在板内最高孔读数在 2.0~2.2 以下时完成读板。