**GUS染色试剂盒（即用型）说明书**

**产品简介：**

GUS(β-Galactosidase)基因是存在于E.coli等一些细菌基因组内的编码β-葡萄糖苷酸酶的一种水解酶，该基因常作为融合标记用于植物转基因分析和调控研究中。GUS受体基因系统有表达E.coli GUS酶的稳定性和在植物内的低活性，绝大多数植物没有检测到葡萄糖苷酸酶的背景活性，以β-葡萄糖苷酸酯类物质为底物，其反应产物可用多种方法检测出来。5-Bromo-chloro-3-indolyl β-D-glucuronide，cyclohexylammonium salt(简称为X-Gluc或X-GlcA)分子量为521.8，CAS号为18656-96-7，是检测大肠杆菌中GUS基因的底物，可快速检测植物中GUS基因融合标记。

GUS染色试剂盒(即用型)又称β-葡萄糖苷酶基因染色试剂盒(β-Galactosidase Reporter Gene Staining Kit)简称为GUS染色液，其染色原理是适宜的反应条件下β-葡萄糖苷酶(GUS)可将X-Gluc水解成蓝色物质，该物质不溶解于转基因的细胞核组织中的靛蓝物质，具有GUS活性的部位或位点呈现蓝色或蓝色斑点，可用肉眼或显微镜观察到，GUS染色液可用于生物化学活性分析、免疫分析以及组织和细胞的组织化学染色，多用于转基因植物的GUS基因表达分析，该即用型试剂比常规GUS染色液操作简便。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

**产品组成：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  编号名称 | RC04213100ml | Storage |
| 试剂(A): X-Gluc | 2支 | -20℃ 避光 |
| 试剂(B): X-Gluc Solution | 2×1ml | RT |
| 试剂(C): GUS Buffer | 100ml | 4℃ 避光 |
| 使用说明书  | 1 份 |

**自备材料：**

1、 70%乙醇

2、 去离子水

3、 小瓶或多孔板、显微镜

**操作步骤** (仅供参考) **：**

 1、配制X-Gluc溶液(50x)：取1ml X-Gluc Solution完全加至1支X-Gluc中，充分溶解，即获得X-Gluc溶液(50x)。配制好的X-Gluc溶液(50x)-20℃保存，1个月有效。

2、配制X-Gluc染色液：取适量的X-Gluc溶液(50x)和GUS Buffer，按1：49比例充分混匀，配制成X-Gluc染色液，如取0.2ml X-Gluc溶液(50x)加入到9.8ml GUS Buffer中，即配成10ml GUS染色液，该染色液现用现配，短期贮存可以4℃保存3天。

3、取适量待染叶片等组织加入适量GUS染色液使其完全浸没组织。

4、37℃孵育1~24h，随着孵育时间的延长，蓝色渐渐出现，当表达量较高时GUS活性的部位或位点呈现蓝色或蓝色斑点。

1. 用70%乙醇脱去样本的叶绿素，一般样本浸没于乙醇1～3h，至阴性对照呈白色。如有必要可重复该脱色步骤，以便彻底清除叶绿素；样本保存于乙醇中，可用肉眼或普通光学显微镜下观察，白色背景上的蓝色即为GUS表达位点。

**注意事项：**

1、  GUS染色液一般冰上配制，可以4℃避光保存3天。

2、  由于组织特异性等原因，蓝色颜色反应可能不完全一致，应注意摸索具体实验条件。

3、  拟南芥的根、花和叶片以及烟草幼苗根就可直接染色；烟草和马铃薯这些植物的茎和叶须在染色前切成薄片(1~3mm)。

4、  当操作大的组织和样品时可以选用真空渗入法来帮助底物和酶渗入细胞，建议采购常规GUS染色液。

5、  GUS染色液(即用型)染色灵敏度较好，但有时会出现非特异性反应(即假阳性)，如非特异性反应较明显，建议采购常规GUS染色液。

**有效期：**6个月有效。