



X-Gluc 5-溴-4-氯-3-吲哚-β-D-葡萄糖苷酸环己胺盐

产品简介

X-Gluc, 也称为 5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl-beta-D-glucuronide (5-溴-4-氯-3-吲哚-β-D-葡萄糖苷酸), 是 β-葡萄糖苷酶 (β-glucuronidase, GUS) 的显色底物, 由一种广泛使用的报告基因 gusA (uidA) 所编码。GUS 水解 X-Gluc, 生成一种无色的葡萄糖醛酸和一种肉眼可见的氯-溴靛蓝 (chloro-bromoindigo) 深蓝色沉淀。利用这一特性, X-Gluc 常用来检测植物细胞和组织中的 GUS 表达; 另外, X-Gluc 还能用来检测大肠杆菌引起的感染状况; 或检测食物或水源是否受细菌污染。

主要应用: 转基因植物报告基因 GUS 活性检测, X-gluc 用作显色底物。

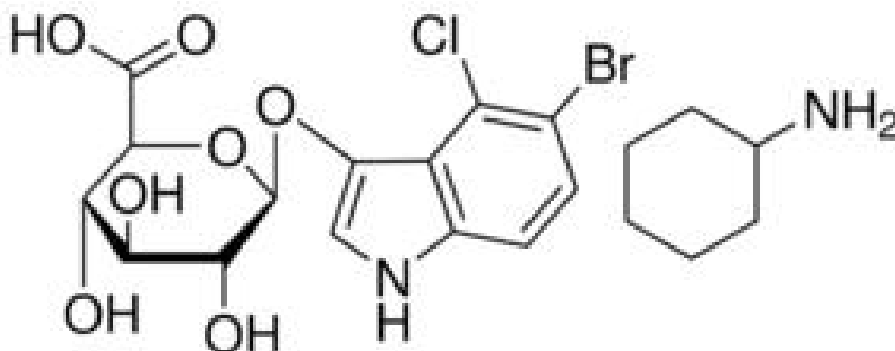
普遍应用优势在于: 绝大多数植物细胞内不存在内源性的 GUS 活性, 而且 GUS 基因表达产物具有检测方法简单、灵敏度高, 易于定量及定性分析, 能够与其他蛋白质基因融合等优势, 因此, GUS 基因为植物工程研究中应用最广泛的报告基因 (报道基因) 之一。

1. GUS 活性检测 (组织化学定位法, 定性研究)

GUS 催化底物 X-gluc 在酶活性位点生成深蓝色沉淀, 为研究外源基因在植物中表达具体部位研究提供很好的研究手段。且 GUS 酶和显色产物非常稳定, 植物中可以积累。

基本特性

- 1) CAS NO: 114162-64-0
- 2) 英文同义名: 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-beta-D-glucuronic acid, cyclohexylammonium salt; X-beta-D-glucuronide CHA salt; X-Gluc CHA Salt; X-glu CHA Salt; X-glcA CHA Salt; BCIG CHA Salt;
- 3) 分子式: $C_{14}H_{13}BrClNO_7 \cdot C_6H_{13}N$
- 4) 分子量: 521.79
- 5) 纯度: >99% (HPLC)
- 6) 外观: 白色至类白色结晶性粉末
- 7) 溶解性: DMF、甲醇
- 8) 化学结构式:





产品组成

名称	编号	FS0375	FS0375	FS0375	Storage
X-Gluc 5-溴-4-氯-3-吡啶-β-D-葡糖苷酸 环己胺盐		25mg	100mg	1g	-20℃ 避光
使用说明书		1 份			

操作步骤

1.1 GUS 染色液制备【作为参考，可按照具体实验条件来调整】

试剂名称	配制方法	用量	备注说明
X-Gluc 储存液 (10mg/ml)	溶解 1mg X-gluc 于 0.1ml 甲醇，低速漩涡充分溶解；	100 μ L	最早实验使用 DMF 作为 X-gluc 溶剂，但是有研究发现 DMF 会抑制 GUS 活性，使用甲醇作为溶剂可将 GUS 活性提高 25%。
2x buffer	磷酸盐缓冲液 pH 7.0 (0.1 M NaH ₂ PO ₄ /0.1 M Na ₂ HPO ₄); 柠檬酸-盐酸溶液 pH 7.0 (0.1 M sodium citrate/ 0.2 N HCl);	1ml	体外 X-gluc 活性（荧光定量染色）显示，使用柠檬酸盐溶液可将 GUS 活性提高 20%。
0.1 M potassium ferrocyanide	将 4.2239g 亚铁氰化钾溶 于水，定容至 100ml。	20 μ L	亚铁-/铁-氰化钾的最佳工作浓度需要摸索，建议最好起始工作浓度为 1 mM。
0.1 M potassium ferricyanide	将 3.2924g 铁氰化钾溶于 水，定容至 100ml。	20 μ L	
10% Triton X-100		10 μ L	
H ₂ O		850 μ L	

1.2 GUS 定性染色步骤

- 于预冷固定液（4%多聚甲醛溶液，新鲜制备）固定样本 30min，偶尔摇晃或置于低速摇床上固定；
- 使用预冷的 1×磷酸盐或柠檬酸盐溶液清洗固定样本 30-60min，中间更换几次清洗液；
- 真空渗透法将 X-Gluc 染色液加入待染色样本【对于组织培养的拟南芥不需用真空渗透；】黑暗条件室温或者 37° C 孵育几小时或过夜，或者明显的蓝色沉淀出现（不超过 24h）；
- 去离子清洗染色样本；
- 对于绿色样本，使用 70%乙醇脱色直到叶绿体完全去除，然后转移到去离子水内清洗；对于种子或其他样本，参考文献 An Improved Clearing Method for GUS Assay in Arabidopsis Endosperm and Seeds 的替代方法；
- 肉眼或显微镜下观察，白色背景上的蓝色小点即为 GUS 表达位点。



【备注】：可直接订购我司（FUSHENBIO）提供的 GUS 染色试剂盒（组织化学法）(CAT#FSM0027-1KIT)，经济实惠，使用方便，节省溶液配制的大量麻烦步骤。

2. GUS 活性检测（荧光分析法，定量研究）

GUS 催化荧光底物 MUG 4-甲基伞型酮-beta-D-葡萄糖苷酸，将其水解为 4-MU（4-甲基伞型酮）和 β -D-葡萄糖醛酸。4-MU 中的羟基解离后在 365nm 的光激发下产生 455nm 的荧光。此时用荧光分光光度计测定得到的是相对值，因此同时需要用标准物 4-MU 进行校准。

荧光定量分析 GUS 活性有两种基本方法：1）在一个时间点测定 GUS 酶作用产物的总荧光量，需要设定空白对照，以消除内源荧光强度；2）测定一段时间内 GUS 的动力学过程。在酶反应初始阶段，酶作用产物与时间呈线性关系，而内源性荧光物质的荧光量与时间无线性关系。由此可计算 GUS 酶活力。GUS 酶活性通常以 $\mu\text{g MU}/\text{min}/\text{mg}$ 蛋白质。有时也可以用样本的鲜重来表示。

2.1 检测步骤【仅作参考，根据具体实验条件做适当调整】

a) 取约 100mg 愈伤组织或一片新鲜叶盘于 1.5ml 离心管内，加入 100 μl 萃取缓冲液（extraction buffer）内匀浆。可加入少量沙子或玻璃珠提高研磨效率。

萃取缓冲液（extraction buffer）配方：50mM 磷酸盐缓冲液（pH 7.0），10mM DTT，1mM Na₂EDTA，0.1% 十二烷基肌氨酸，0.1% Triton X-100

b) 4° C，15,000rpm 离心 5min。收集上清转移到另一干净的 1.5ml 离心管，冰上放置待用。

c) 取 50 μl 上述萃取上清到 0.5ml 37° C 预热的反应缓冲液（Assay buffer）；用移液枪吹匀或涡涡混匀。反应缓冲液（Assay Buffer）：称取 17.6mg MUG 溶于 50ml 萃取缓冲液，此时即为 1mM MUG 反应液。4° C 保存，2 周稳定。

d) 在某一时间段内（高 GUS 活性样本 30min；或低 GUS 活性 1h-过夜；）吸取 100 μl 溶液到含 900 μl 终止液（Stop Buffer）的 1.5ml 离心管内，做好标记。有可能采集 3-4 个时间点和过夜孵育的时间点荧光量。

【用荧光分光光度计在激发波长 365nm、发射波长 455nm 下，狭缝 10nm 时测定不同时间点的荧光强度值。】

e) 以荧光强度值对反应时间作曲线，求出单位时间的荧光强度变化。用单位时间的荧光强度变化除以参加反应的蛋白量，求出单位质量的蛋白单位时间的荧光强度变化。

相关产品

货号	产品名称	规格
FS0372-1G	X-Gal 5-溴-4-氯-3-吡啶- β -D-吡喃半乳糖苷	1g
FS0372-5G	X-Gal 5-溴-4-氯-3-吡啶- β -D-吡喃半乳糖苷	5 \times 1g
FS0373-5G	IPTG 异丙基- β -D-硫代半乳糖苷	5g
FS0373-10G	IPTG 异丙基- β -D-硫代半乳糖苷	10g
FS0373-100G	IPTG 异丙基- β -D-硫代半乳糖苷	100g
FS0374-25MG	X- α -Gal 5-溴-4-氯-3-吡啶- α -D-吡喃半乳糖苷	25mg
FS0374-100MG	X- α -Gal 5-溴-4-氯-3-吡啶- α -D-吡喃半乳糖苷	100mg
FS0374-250MG	X- α -Gal 5-溴-4-氯-3-吡啶- α -D-吡喃半乳糖苷	250mg
FS0375-25MG	X-Gluc 5-溴-4-氯-3-吡啶- β -D-葡萄糖苷酸环己胺盐	25mg
FS0375-100MG	X-Gluc 5-溴-4-氯-3-吡啶- β -D-葡萄糖苷酸环己胺盐	100mg
FS0375-1G	X-Gluc 5-溴-4-氯-3-吡啶- β -D-葡萄糖苷酸环己胺盐	1g
FS0376-250MG	MUG 4-甲基伞型酮-beta-D-葡萄糖苷酸	250mg
FS0376-1G	MUG 4-甲基伞型酮-beta-D-葡萄糖苷酸	1g