

使用 GloMax[®] Galaxy 可视化 HiBiT 标记 GPCR 的激动剂诱导内化

使用 GloMax[®] Galaxy 细胞成像仪，在活细胞中可视化 HiBiT 标记 GPCR 的激动剂诱导内化过程。

成像仪： GloMax[®] Galaxy Bioluminescence Imager System
(Cat.# GM4000)

试剂盒： Nano-Glo[®] HiBiT 细胞外检测系统
(Cat.# N2420)

分析方法： 发光成像

样品类型： 表达 HiBiT 标记 GPCR 的细胞

所需材料：

- GloMax[®] Galaxy 细胞成像仪 (Cat.# GM4000)
- Nano-Glo[®] HiBiT 细胞外检测系统 (Cat.# N2420)
- 表达 HiBiT 标记 GPCR 的细胞
- GPCR 激动剂 (例如：司美格鲁肽)
- μ -Slide 8 孔高透玻璃底培养皿 (ibidi, Cat.# 80807)
- 活细胞成像溶液 (Invitrogen[™], Cat.# A59688DJ)
- 图像分析软件 (例如 ImageJ)

该实验流程由 Promega 应用科学家开发，仅供科研使用。

用户需自行验证该流程是否适用于其具体应用。

更多信息请参阅：

- [操作手册 TM756](#)
- [技术手册 TM523](#)

技术支持联系方式：

chinatechserv@promega.com

操作流程：

1. 在 ibidi[®] 玻片中接种表达 HiBiT 标记 GPCR 的细胞。充分混匀以实现均匀铺板，并尽量避免产生气泡。
2. 在 37°C、5% CO₂ 条件下孵育过夜。
3. 从培养箱中取出玻片并去除培养基。
注：如有需要，可在加入 Nano-Glo[®] 试剂之前进行荧光染色。
4. 每孔加入 100 μ l 室温平衡后的活细胞成像溶液。
5. 按照 TM523 说明配制 2X Nano-Glo[®] HiBiT 细胞外检测试剂 (100 μ l/ 孔)，并通过移液轻柔混匀。
6. 向每孔加入 100 μ l Nano-Glo[®] HiBiT 细胞外检测试剂，并通过移液轻柔混匀。
7. 在 GloMax[®] Galaxy 进行基线成像 (baseline imaging)，包括生物发光、明场 (brightfield)，以及 (如需要) 荧光成像。
在该步骤中确定合适的聚焦和 / 或曝光参数。
8. 在不将样品移出仪器的情况下，加入 10 μ l 激动剂或溶剂对照，并通过移液轻柔混匀。
注：最终浓度需由用户自行确定。
9. 在 GloMax[®] Galaxy 上启动时间序列采集。时间序列的持续时间需由用户确定。
10. 使用专用分析软件 (例如 ImageJ) 处理图像。

结果:

在 GloMax[®] Galaxy 上可以成功可视化 HiBiT 标记 GPCR 的激动剂诱导内化，但需要同时获取溶剂对照，以校正随时间推移产生的自发信号动态变化及 NanoGlo[®] 底物耗竭效应。

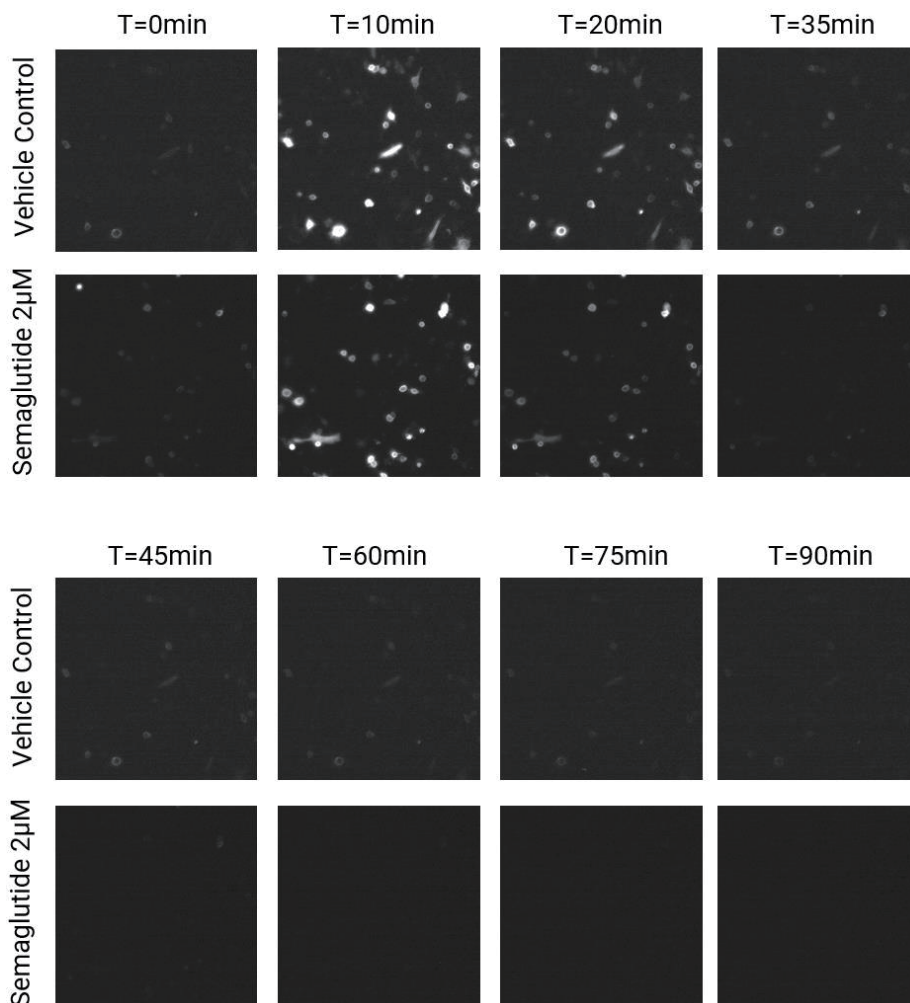


图 1. 在 GloMax[®] Galaxy 上采集的司美格鲁肽诱导 HiBiT-GLP1R 内化过程随时间变化的发光图像示例。 HeLa 细胞被瞬时转染 HiBiT-GLP1R 构建体，接种于 ibidi[®] 玻片中，并孵育过夜。第二天，去除培养基，并向每孔加入 100µl 活细胞成像溶液。随后在成像前加入 100µl Nano Glo[®] HiBiT 细胞外检测试剂。在加药前 (T = 0 分钟) 采集一张图像。随后加入司美格鲁肽 (最终浓度 2µM) 或溶剂对照 (Opti-MEM + 10% DMSO)，并在 GloMax[®] Galaxy 上采集约 1 小时 30 分钟的发光时间序列图像。使用的曝光时间为 7 分钟。图像在 ImageJ 中进行处理，对所有时间点统一应用标准化显示参数 (包括暗帧背景扣除)。

普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司

地址: 北京市东城区北三环东路 36 号
 环球贸易中心 B 座 907-909
 电话: 010-58256268
 传真: 010-58256160

网址: www.promega.com
 技术支持电话: 400 810 8133
 技术支持邮箱: chinatechserv@promega.com
 更新时间: 2026.06

