

D-Luciferin, Potassium Salt D-荧光素钾盐

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5896-100mg	D-Luciferin, Potassium Salt D-荧光素钾盐	100mg
NBS5896-500mg	D-Luciferin, Potassium Salt D-荧光素钾盐	500mg
NBS5896-1g	D-Luciferin, Potassium Salt D-荧光素钾盐	1g
NBS5896-5g	D-Luciferin, Potassium Salt D-荧光素钾盐	5x1g
NBS5896-10g	D-Luciferin, Potassium Salt D-荧光素钾盐	10x1g

产品简介:

D-荧光素 (D-Luciferin) 是荧光素酶 (Luciferase) 的常用底物, 普遍用于整个生物技术领域, 特别是体内活体成像技术。作用机制是在 ATP 和荧光素酶的作用下, D-荧光素 (底物) 被氧化发光。当荧光素过量时, 产生的光量子数与荧光素酶的浓度呈正相关性。将携带荧光素酶编码基因 (Luc) 的质粒转染进入细胞后, 导入研究动物如小鼠体内, 之后注入荧光素, 通过生物发光成像技术 (BLI) 来检测光强度变化, 从而实时监测疾病发展状态或药物的治疗功效等。也可以利用 ATP 对此反应体系的影响, 根据生物发光强度的变化来指示能量或生命体征。

D-荧光素也常用于体外研究, 包括荧光素酶和 ATP 水平分析; 报告基因分析; 高通量测序和各种污染检测。目前有三种产品形式: D-荧光素 (游离酸), D-荧光素盐 (钠盐和钾盐)。主要差别在于溶解特性:

- 1) D-荧光素 (游离酸) 在水以及缓冲体系内的溶解性都很弱, 除非溶于弱碱如 NaOH 和 KOH 溶液。溶于甲醇 (10 mg/ml) 和 DMSO (50 mg/ml)。
- 2) D-荧光素 (钠盐) 和 D-荧光素 (钾盐) 能够非常容易且快速的溶入水或者缓冲液中, 使用方便, 溶剂无毒性, 特别适合体内实验。配成溶液后的三种产品, 在绝大多数应用上都没有实质性的差别。
- 3) D-荧光素 (钠盐) 和 D-荧光素 (钾盐) 基本上没有差别, 主要是使用习惯等因素影响。整体来看, 钾盐的应用文献明显多于钠盐。

基本特性:

- 1) CAS NO: 115144-35-9
- 2) 化学名: 4,5-Dihydro-2-(6-hydroxy-2-benzothiazolyl)-4-thiazolecarboxylic acid potassium salt, D-Luciferin firefly, potassium salt
- 3) 分子式: $C_{11}H_7N_2O_3S_2K$
- 4) 分子量: 318.42 g/mol
- 5) 纯度: > 99% (HPLC), 分子生物学级 (超纯)
- 6) 外观: 浅黄色至黄色粉末
- 7) 溶解性: 溶于水 (60 mg/ml)

保存条件:

-20°C干燥避光储存, 有效期 2 年。

产品使用:**A. 体外生物发光检测****1) 储存液制备**

用蒸馏水溶解 D-荧光素 (钾盐), 配制成 15mg/ml 的储存液 (100×), 混匀后立即使用或分装于-20°C或-80°C冻存, 避免反复冻融。建议使用的工作液浓度为 150μg/ml (相当于 468μM)。

2) 荧光素酶反应缓冲液制备

配方【1×, 参考 Yuichi Oba, et al., 2003】: 100mM Tris-HCl (pH 7.8), 5mM $MgCl_2$, 250μM CoA, 150μM ATP。具体缓冲液组成可参考其他文献资料来调整。按照以上配方制备荧光素酶反应缓冲液 (2×)。

3) 收集细胞裂解上清 (荧光素酶表达)

根据需要检测的细胞类型, 选择合适的裂解液进行细胞裂解, 离心收集上清后续检测待用。

4) 萤火虫荧光信号检测

【注①】: 萤火虫荧光信号的检测方法大体上取决于冷光测定仪 (luminometer) 类型 (是手动型荧光计、单管注射型或者酶标板读数型荧光计)。根据特定发光测定仪, 来考虑注射用量和程序设置。

【注②】: 需设置不含荧光素酶的孔 (用作阴性对照), 以测定背景荧光。

例: 注射式冷光测定仪 (injectible luminometer, 单样或微孔板, 200μl 终体积)

- a) 吸取 100 μ l 荧光素酶反应缓冲液 (2 $\times$) 到一干净的冷光测定仪比色皿或 96 孔板的各孔 (最好使用全白平底 96 孔板);
- b) 吸取 50~98 μ l 裂解上清到皿或孔内;
- c) 如果有需要, 用水来补足使得总体积到 198 μ l;
- d) 设置程序注射 2 μ l 荧光素储存液 (使工作浓度 150 μ g/ml), 程序: 2~5 秒延迟 (delay), 之后 10s 测定。

B. 活体成像分析

1) 用无菌的 PBS (w/o Mg^{2+}) 或者 DPBS (w/o Mg^{2+}) 配制 D-荧光素 (钾盐) 工作液 (15mg/ml), 0.2 μ m 滤膜过滤除菌。混匀后立即使用或分装于 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C 冻存, 避免反复冻融。一旦使用, 放到 4 $^{\circ}$ C 解冻, 保持冰冷且避光。

2) 注射量取决于注射方式, 具体如下:

注射方式	剂量
静脉注射 (25-27 gauge 针头)	按 10 μ l/g 体重浓度, 加入相应体积的 15mg/ml 荧光素工作液
腹腔注射 (25-27 gauge 针头)	按 10 μ l/g 体重浓度, 加入相应体积的 15mg/ml 荧光素工作液
肌肉注射 (27 gauge 针头)	50 μ l, 浓度为 1-2mg/ml 荧光素工作液
鼻内注射 (pipette)	50 μ l, 浓度为 3mg/ml 荧光素工作液

3) 注射入体内 10-20 min (待光信号达到最强稳定平台期), 再进行成像分析。

注: 建议对每只动物模型都需要建立荧光素酶动力学曲线, 从而确定最高信号检测时间和信号平台期。

注意事项:

1. 本品要进行避光操作和保存。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!

相关产品:

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS5894-250mg</u>	<u>D-Luciferin Firefly, Free Acid D-萤火虫荧光素 (游离酸)</u>	250mg
<u>NBS5895-100mg</u>	<u>D-Luciferin, Sodium Salt D-荧光素钠盐</u>	100mg
<u>NBS5896-100mg</u>	<u>D-Luciferin, Potassium Salt D-荧光素钾盐</u>	100mg
<u>NBS5897-10mg</u>	<u>DMNPE-caged Luciferin D-荧光素 (DMNPE 笼闭)</u>	10mg