

上海源叶生物科技有限公司 Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd

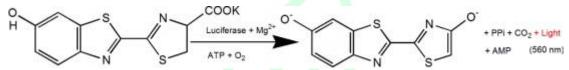
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248

网址: www.shyuanye.com 邮箱: shyysw@sina.com

# D-荧光素钾盐说明书

### 产品简介:

D-荧光素(D-Luciferin)是荧光素酶(Luciferase)的常用底物,普遍应用于整个生物技术领域,特别是体内活体成像技术。其作用机制是在 ATP 和荧光素酶的作用下,荧光素(底物)能够被氧化发光。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(见下图)。将携带荧光素酶编码基因(Luc)的质粒转染入细胞后,导入研究动物如大、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。



E-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:前者的水溶性以及缓冲体系的溶解性都较弱,除非溶于弱碱如低浓度 NaOH 和 KOH 溶液。可溶于甲醇和 DMSO;后者能够易溶于水或缓冲液中,使用方便,溶剂无毒性,特别适合体内实验。配成溶液后的这三种产品,在绝大多数的应用上都没有实质性的差别。

#### 储存条件:

-20℃干燥避光储存。

#### 使用说明:

#### 1. 体外生物发光检测

- 1) 用无菌蒸馏水溶解 D-荧光素钾盐, 配制成 30 mg/mL 的储存液 (100-200×), 混匀。立即使用,或分装于-20℃避光保存,避免反复冻融。
  - 2) 用预热好的组织培养基将储存液稀释至 0.15-0.3 mg/mL 的工作液浓度。
  - 3) 去除细胞培养基。



上海源叶生物科技有限公司

Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd 电话: 021-61312973 传真: 021-55068248

网址: www.shyuanye.com 邮箱: shyysw@sina.com

4) 待图像分析前,向细胞内添加荧光素工作液,37℃孵育 5-10 min,然后进行图像分析。

## 2. 活体成像分析

- 1) 用无菌的 DPBS (w/o Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>) 配制 15 mg/mL 的荧光素的储存液, 混匀。
- 2)用 0.2 μm 滤膜过滤除菌。立即使用,或分装于-20℃避光保存,避免反复冻融。
  - 3) 腹腔注射(i.p.),按照 150 mg/kg 的荧光素/体重浓度进行注射。
- 4) 注射入体内 10-15 min (待光信号达到最强稳定平台期) 后进行成像分析。
- 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(firefly luciferin)和甲虫荧光素(beetle luciferin)仅仅是不同公司在命名上的差异,都是指化合物(S)-2-(6-Hydroxy-2-benzothiazolyl)-2-thiazoline-4-carboxylic acid。
- 2. 注射方式、动物类型以及体重等都会影响信号的发射,因此建议每次实验都要做荧光素酶动力学曲线,确定最佳信号平台期和最佳的检测时间。
- 3. 如果要进行 ATP 的检测,尽量避免外源 ATP 的污染,如操作时戴手套并使用 ATP-free 的实验耗材,在进行荧光素的溶解时应使用 ATP-free 无菌水。
- 4. 本品要进行避光操作和保存。储存液过滤除菌后可分装于-20℃或-80℃ 冻存。如果有条件,可对储存液充入氮气或氩气(防止氧化),稳定性和保存 时间长达1年。
- 5. 在进行 D-荧光素钾盐的溶解时,应使用无钙镁离子的 DPBS,因钙镁离子可能会抑制荧光素酶的活性,此外镁离子可能会对荧光素的氧化造成影响,从而影响检测。
  - 6. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。
  - 7. 本产品仅作科研用途!