腔肠素400A

溶解性数据：

体外实验：

Ethanol：1 mg/mL (2.55 mM; ultrasonic and warming and heat to 60°C; DMSO can inactivate Coelenteramine 400a's activity)

	Concentration	1 mg	5 mg	10 mg
制备储备液	1 mM	2.5545 mL	12.7727 mL	25.5454 mL
	5 mM	---	---	---
	10 mM	---	---	---

请根据产品在不同溶剂中的溶解度，选择合适的溶剂配制储备液；该产品在溶液状态不稳定，建议您现用现配，即刻使用。

BIOLOGICAL ACTIVITY：

生物活性：

Coelenteramine 400a (Coelenterazine 400a)，一种 Coelenterazine 的衍生物，是海肾荧光素酶 (RLuc) 的底物。在Coelenteramine 400a 的存在下，RLuc 可以发出 395 nm 的蓝光。Coelenterazine 400a 通过取代亚甲基桥的硫和氧杂原子导致 Rluc 的生物发光反应发生色变。Coelenterazine 400a 提供了更高的信号分辨率，可用于生物发光共振能量转移 (BRET) 研究。

体外研究：

发光反应

1.溶液制备：

1) 准备 10 μL 浓度为 1.0-5.0 mM 的 Coelenteramine 400a 溶液。

2) 准备 10 μL 浓度为 2.01 mg/mL 的 Renilla luciferase (RLuc8.6-53) 溶液。

3) 将上述两种溶液与 200 μL 缓冲液混合。

2. 具体染色步骤：

1) 使用配备液氮冷却CCD 探测器的多通道光谱仪记录混合溶液的生物发光光谱。光谱仪的绝对光谱灵敏度需事先用 500 W 光谱辐照度标准灯校准。

2) 采用定制的配备光电倍增管 (PMT，H11890 - 01，Hamamatsu Photonics，Japan) 的光度计测定生物发光反应的相关参数。光度计的绝对响应度需用积分球光谱仪校准，通过光度计测量的相对计数值与积分球测量的绝对值绘制线性 图来确定。

3) 在试管中，将 5-15 μL 浓度为 10 nM (总计 50-150 fmol) 的 Coelenteramine 400a 溶液预先放入光度计中，然后注入150 μL 浓度为 20 μg/mL 的荧光素酶溶液 (在0.1 M GTA 缓冲液中，pH 分别为 6.0、7.0 和 8.0) 启动反应。监测反应直至发光反应完全，从获得的总光子数和荧光素分子数计算生物发光反应量子产率。

4) 使用 Lineweaver-Burk 图计算底物 Coelenteramine 400a 的米氏常数 (Km)。计算催化常数 (kcat)。使用 Quantaurus-QY 在激发光设置为 300 nm 的条件下测量相应氧化产物 Coelenteramide 400a (CTMD 400a) 的荧光光谱和绝对荧光量子产率 , 测量时 CTMD 400a 溶液在 DMSO 中的浓度为20 μM。