

D-Luciferin, Sodium Salt (D-萤光素钠盐)

产品介绍

活体成像技术 (Optical in Vivo Imaging) 目前主要采用生物发光 (Bioluminescence) 与荧光 (Fluorescence) 两种技术, 生物发光法是基于萤光素酶能催化底物化学发光的原理, 将体外能稳定表达萤光素酶的细胞株植入动物体内, 与后期注射入体内的底物发生反应, 利用光学系统检测光强度, 间接反映出细胞数量的变化或细胞的定位。这项技术已被广泛应用于构建肿瘤或疾病动物模型, 以及病毒学、siRNA、干细胞和蛋白质相互作用等研究领域。

D-Luciferin 是 Luc 基因编码的萤光素酶 (Luciferase) 的常用底物, 在 ATP 和萤光素酶的作用下, 萤光素被氧化, 可以在 560 nm 检测到其化学发光。由于化学发光的低背景性, Luc 基因在很低的表达水平下就可以被监测到。此外, 萤光素/萤光素酶被用来测量 10^{-15} 摩尔量的 ATP。检测原理见图 1。

本产品推荐多功能酶标仪的化学发光模块进行检测。

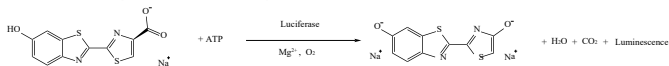


图 1 检测原理图

应用范围

体外化学发光分析 (in Vitro)、活体成像实验 (in Vivo)、高灵敏度 ATP 分析。

产品货号

D1007S/D1007L

储运条件

-20°C 干燥避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

产品特点

灵敏度高: 能够检测最低 10^{-15} mol 的萤光素酶;

线性范围广: 酶的浓度线性范围可达 8 个数量级。

产品组分

组分	D1007S	D1007L
D-Luciferin, Sodium Salt	10 mg	500 mg

产品参数

外观: 可溶于水的浅黄色固体

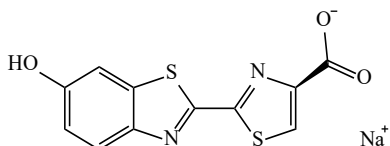
Ex/Em: 328/533 nm

CAS号: 103404-75-7

分子式: $C_{11}H_7N_2NaO_3S_2$

分子量: 302.3

分子结构图:



注意事项

1. D-Luciferin, Sodium Salt 样品的背景荧光主要来源于萤光素。
2. D-萤光素钠盐在水中的溶解度可达 100 mM, 请使用不含 ATP 的无菌水溶解, 并且立即使用或者分装保存于 -20°C。
3. 本产品可以用于检测报告基因和 ATP 检测。
4. 如果进行 ATP 分析, 请选择不含 ATP 的无菌水和试剂。
5. 本产品适用于大部分的细胞类型样本和动物模型。
6. 本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品和药品, 不得存放于普通住宅内。
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1. 耗材
(1) 离心管 (2) 注射器 (3) 0.22 μ m 滤膜
2. 试剂
(1) ddH₂O (2) 细胞培养基 (3) DPBS

操作步骤

1. 体外发光检测

- (1) 用 330 μ L 无菌水溶解 10 mg D-萤光素钠盐, 配制成为 100 mM (约 30 mg/mL) 的储存液。混匀后立即使用或分装后 -20°C 冻存。
- (2) 用预热好的细胞培养基稀释 D-萤光素钠盐储存液, 配置成工作液 (0.5~1 mM)。

注: 不同的细胞样本需要的 D-萤光素钠盐的浓度可能不同, 请进行预实验摸索最优条件。

- (3) 去除培养细胞的培养基。
- (4) 向细胞内添加适量萤光素工作液, 在 37°C 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 (无 Mg^{2+} 和 Ca^{2+}) 配制 D-萤光素钠盐工作液 (15 mg/mL), 向 10 mg D-萤光素钠盐中加入 667 μ L DPBS, 0.22 μ m 滤膜过滤除菌。混匀后立即使用或分装后 -20°C 冻存。
- (2) 参照下表, 根据不同的注射方式, 注射不同的体积。
- (3) 注射入体内 5~10 min 后, 进行成像分析。

注: 每种动物模型需要进行萤光素的动力学研究, 以确定信号峰值时间。

注射方式	注射剂量
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 15 mg/mL 萤光素工作液
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 15 mg/mL 萤光素工作液
肌肉注射 (27 gauge 针头)	50 μ L, 浓度为 1~2 mg/mL 萤光素工作液
鼻内注射 (pipette)	50 μ L, 浓度为 3 mg/mL 萤光素工作液

FAQ

1. 问：底物的激发波长和发射长？

答：化学发光，无需激发波长。萤火虫萤光素发射波长是 560 nm。

2. 问：推荐仪器？多功能酶标仪能用吗？

答：(1) 推荐仪器：具有生物化学发光检测模块。萤光素产生的光可以被光度计或闪烁计数器检测。常见的活体成像仪器：如 IVIS® Lumina 小动物活体成像系统，德国 Bruker 公司的 In-Vivo Xtreme 多模式小动物活体成像仪。

(2) 多功能酶标仪：需要和仪器厂家确认是否具体生物化学发光检测模块。

注：不能用荧光显微镜。

3. 问：底物可以进入活细胞中或者血脑屏障吗？

答：D-萤光素约 280 道尔顿，萤光素的水溶性和脂溶性都非常好，可以通过血脑屏障，胎盘屏障和血液测试屏障，也可以进入活细胞。

4. 问：活体成像实验，无效果的原因？

答：成功进行活体成像实验需要以下条件：

(1) 目的组织或细胞表达萤光素酶基因；

(2) 萤光素底物注射成功；

(3) 依赖于发光部位的组织厚度。实验不成功，可从上述因素查找，萤光素酶基因是否表达，萤光素底物是否未正确注射，及发光部位较深等。

5. 问：产品不小心放在室温下或暴露在下光线下了，还可以用吗？

答：产品在室温下可以稳定保存很多天，因此产品很可能仍然可以正常工作。为安全起见，建议在处理大量样品或珍贵样品之前，先进行小规模阳性对照实验，以确认该产品仍然适用于您的应用。

6. 问：萤光素钾盐和萤光素钠盐的区别是什么？

答：萤光素钾盐和萤光素钠盐应用上没有差别，两者的差别在于物理性上如外形和溶解性。钠盐的水溶性高于钾盐。从目前发表的文献来看，钾盐的使用率远高于钠盐，尤其是体内实验，两者功效相同。

7. 问：活体成像有必要建立萤光素酶动力学曲线吗？

答：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萤光素酶动力学曲线，确定最佳信号平台期和最佳的检测时间。

相关产品

产品货号	产品名称
D1007	D-Luciferin, Sodium Salt (D-萤光素钠盐)
D1009	D-Luciferin, Potassium Salt (D-萤光素钾盐)
D1010	D-Luciferin, Potassium Salt (D-萤光素钾盐，增强型)
F6075	Dualucif® Firefly & Renilla Assay Kit (双萤光素酶报告基因检测试剂盒)
F6024	Firefly Luciferase Assay Kit (萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒)
R6073	Renilla Luciferase Assay Kit (海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒)
F6072	One-Step Firefly Luciferase Assay Kit (一步法萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒)