

D-Luciferin, Potassium Salt (D-萤光素钾盐)

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。

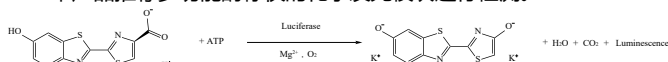


图 1 检测原理图

应用范围

活细胞、组织或生物体内 Luc 标记基因和萤光素酶-融合基因体内/体外表达的成像分析、报告基因分析、免疫分析、ATP 荧光卫生监测分析

产品货号

D1009S/D1009L

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	D1009S	D1009L
D-Luciferin, Potassium Salt	10 mg	500 mg

产品参数

外观: 可溶于水的浅黄色固体

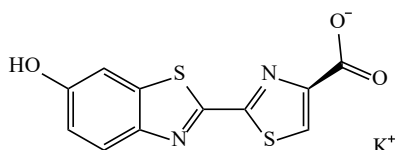
Ex/Em: 328/533 nm

CAS号: 115144-35-9

分子式: $C_{11}H_7N_2O_3S_2K$

分子量: 318.4

分子结构图:



注意事项

1. D-Luciferin, Potassium Salt 样品的背景荧光主要来源于萤光素。
2. D-萤光素钾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. 本产品使用与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-萤光素钾盐, 配制成 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-萤光素钾盐储存液, 配置成工作液 (0.5~1 mM)。

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

- (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-萤光素钾盐工作液 (15 mg/mL), 即向 10 mg D-萤光素钾盐中加入 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：D-萤光素钾盐主要应用在哪些方面？

答：它主要应用于生物医学研究领域。例如在活体动物成像中，通过标记细胞或生物分子，利用其生物发光特性可以追踪细胞的活动、监测疾病的发展等。在基因表达研究中，可作为报告基因的底物，通过检测萤光强度来反映特定基因的表达式。此外，在药物研发中，可用于评估药物的疗效和毒性等。

2. 问：在活体动物成像中如何使用 D-萤光素钾盐？

答：首先，要把表达萤光素酶的细胞或组织植入活体动物体内。之后以合适方式（如注射）将 D-萤光素钾盐引入动物体内。过一定时间后，用特定成像设备（如 Revvity 小动物活体成像系统，CCD 成像设备）检测萤光素酶催化 D-萤光素钾盐产生的光信号。依据光信号的强度和分布等信息，能推断出标记细胞或组织的位置、数量等状况。

3. 问：使用 D-萤光素钾盐有哪些安全注意事项？

答：D-萤光素钾盐需在通风良好的实验室环境下操作。操作人员要佩戴合适的防护装备，像手套、护目镜之类，以防与之直接接触。需妥善保管，规避受潮、受热或者光照等可能对其稳定性产生影响的因素，并且要依据相关规定处置废弃物，防止给环境带来污染。

4. 问：如何正确储存 D-萤光素钾盐？

答：一般建议将 D-萤光素钾盐储存在-20℃的环境中。在这样的低温条件下，能够有效减缓其化学活性，降低分解或变质速度。如果没有-20℃的冰箱，也应尽量将其储存在 2~8℃的冷藏环境中也能在一定程度上延缓其质量变化。

5. 问：为什么 D-萤光素钾盐/钠盐要溶于无 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 的 PBS？

答：(1) 保护萤光素酶结构与活性。萤光素酶的活性部位对其周围环境非常敏感。 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 可能会与萤光素酶的某些结构域或氨基酸残基相互作用，影响其正确的空间构象。

(2) 防止竞争性抑制。在生物发光反应中，萤光素酶与 D-萤光素钾盐/钠盐的结合及催化反应是高度特异性的。 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 可能会与萤光素酶的活性中心竞争结合 D-萤光素钾盐/钠盐，从而干扰正常的催化反应。

(3) 维持细胞正常生理状态。当进行涉及细胞的实验时，细胞外环境中的 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 浓度变化可能会影响细胞的生理状态和功能。

(4) 确保实验准确性和可重复性。在生物发光实验中，准确测量萤光强度是关键。如果使用含 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 的 PBS 溶解 D-萤光素钾盐/钠盐，由于 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 可能与底物或其他实验体系中的成分发生未知的反应，会导致实验结果的不稳定和不可靠。

6. 问：动物对重复注射 D-萤光素的反应如何？

答：(1) 急性反应。

1) 局部组织反应。注射部位可能会出现一些局部的轻微炎症反应，一般不会对动物的整体健康状况产生严重影响。

2) 整体生理反应。重复注射时，如果间隔时间较短，动物的代谢系统可能尚未完全将前一次注射的 D-萤光素完全代谢清除。

(2) 中期反应（多次重复注射后数天到数周）

1) 代谢适应。随着重复注射次数的增加，动物的肝脏和肾脏等主要代谢器官可能会逐渐适应对 D-萤光素的代谢需求。肝脏中的酶系统可能会出现一定程度的上调，以更高效地代谢和清除 D-萤光素。

2) 免疫反应调节。动物的免疫系统可能对重复注射的 D-萤光素产生一定的反应，也可能产生一定的耐受性。

(3) 长期反应（多次重复注射后数月及以上）

1) 潜在的累积效应评估。如果注射频率过高或剂量过大，仍可能存在药物在某些组织或器官中缓慢累积的风险。

2) 对动物整体健康和行为的影响。在长期重复注射 D-萤光素且剂量和频

率控制合理的情况下，动物的整体健康状况和行为通常不会受到显著影响。动物仍然能够正常进食、活动和休息，其生长发育和繁殖等生理过程也基本能够正常进行。

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)