

## D-Luciferin, Potassium Salt (Enhanced) (D-萤光素钾盐，增强型)

### 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。

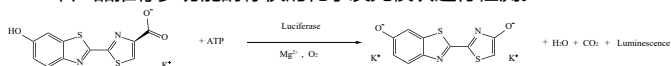


图 1 检测原理图

相比于基础版 D-萤光素钾盐 (D1009)，D-萤光素钾盐 (增强型) 在相同浓度下，底物与萤光素酶反应后发光更强且更持久。

### 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，免疫分析和ATP荧光卫生监测分析。

### 产品货号

D1010S/D1010L

### 储运条件

-20°C干燥避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

### 产品组分

| 组分                          | D1010S | D1010L |
|-----------------------------|--------|--------|
| 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

### 注意事项

- D-Luciferin, Potassium Salt样品的背景荧光主要来源于萤光素。
- 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。
- 本产品可以用于检测报告基因和 ATP 检测。
- 如果进行 ATP 分析，请选择不含 ATP 的无菌水和试剂。
- 本产品使用与大部分的细胞类型样本和动物模型。
- 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。
- 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

- 耗材  
(1) 离心管 (2) 注射器 (3) 0.22 μm 滤膜
- 试剂  
(1) ddH<sub>2</sub>O (2) 细胞培养基 (3) DPBS

### 使用方法

#### 1. 体外发光检测

- 用314 μL无菌水溶解10 mg D-萤光素钾盐，配制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。
- 用预热好的细胞培养基稀释 D-萤光素钾盐储存液，配制工作液 (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。

- 去除培养细胞的培养基。
- 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. 动物活体成像分析

- 用无菌的DPBS (无Mg<sup>2+</sup>和Ca<sup>2+</sup>) 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 μL 1×PBS，0.22 μm 滤膜过滤除菌。使用时，需保持冰冷且避光。
- 参照下表，根据不同的注射方式，注射不同的体积
- 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 μL/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 μL/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 μL，浓度为 1~2 mg/mL 萤光素工作液             |
| 鼻内注射 (pipette)        | 50 μL，浓度为 3 mg/mL 萤光素工作液               |

#### 3. 植物活体成像分析

- 用314 μL无菌水溶解10 mg D-萤光素钾盐，配制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。
- 用无菌的蒸馏水将储存液稀释至0.3-0.5 mg/mL的工作浓度。
- 用工作液喷湿叶片背面，常温避光静置5-10 min后进行检测。

#### 4. 萤光素酶报告基因检测

- 用314 μL无菌水溶解10 mg D-萤光素钾盐，配制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。
- 制备检测缓冲液为25 mM Tricine pH 7.8、3 mM ATP、1 mM DTT 和15 mM MgSO<sub>4</sub>。用检测缓冲液将储存液稀释至1 mM的工作浓度。
- 将5-10 μL细胞裂解物移至微孔板中。使用裂解液或不含细胞裂解物的检测缓冲液作为空白。
- 根据仪器的说明手册设置检测参数。立即注入200 μL D-萤光素钾盐工作溶液，曝光时间为10 s。

## FAQ

1. 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  
状上如外形和溶解性。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。

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：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。

## 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<br>(双萤光素酶报告基因检测试剂盒)      |
| F6024 | Firefly Luciferase Assay Kit<br>(萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒)             |
| R6073 | Renilla Luciferase Assay Kit<br>(海肾萤光素酶报告基因检测试剂盒)              |
| F6072 | One-Step Firefly Luciferase Assay Kit<br>(一步法萤火虫萤光素酶报告基因检测试剂盒) |