

D-Luciferin Firefly, Free Acid 说明书

1. 一般性质

产品名称: D-Luciferin Firefly, Free Acid (中文: D-荧光素游离酸)

CAS 号: 2591-17-5

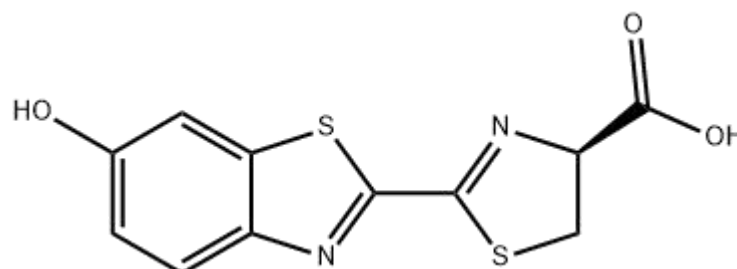
产品货号: PLK-H23011-1G

外观性状: 类白色至浅黄色粉末

分子式: $C_{11}H_8N_2O_3S_2$

分子量: 280.33

结构式:



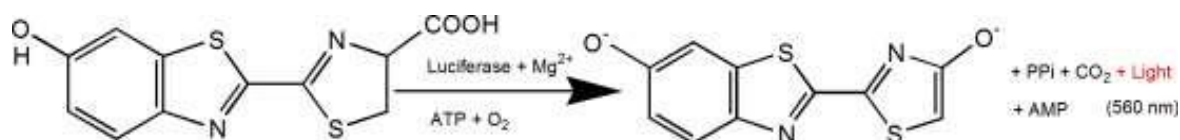
溶解性: 难溶于水, 可加入稀碱促进其溶解

光谱: $\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$: $385 \pm 3nm/529 \pm 3nm$

质控项目: 如, HPLC ($\geq 95\%$)

2. 产品描述

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。荧光素酶通过二氧杂环丁酮中间体氧化 ATP 激活荧光素, 荧光素 (底物) 被氧化发光。当荧光素过量时, 产生的光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。



D-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。

3. 产品用法

1 体外生物发光检测

1) 用稀碱(如 NaOH, KOH 溶液)溶解 D-荧光素, 游离酸, 配制成 30 mg/ml 的储存液(200×), 并调整 pH 至 7.4。混匀后立即使用或分装于-20°C或-80°C冻存, 避免反复冻融。

【注】: 如果有沉淀发生则需要调整 pH 至更高直至完全溶解。之后可以重新用酸性溶液来中和, 调整至 pH7.4。

2) 用预热好的组织培养基 1:200 稀释储存液, 配制工作液(终浓度 150µg/ml)。

3) 去除培养细胞的培养基直至无残留。

4) 待图像分析前, 向细胞内添加 1×荧光素工作液, 然后进行图像分析(或者细胞放在 37°C短时间孵育后检测可增强信号)。

2 活体成像分析

1) 用稀碱(如 NaOH, KOH 溶液)配制 D-荧光素工作液(15mg/ml), 并调节 pH 至 7.4, 0.2µm 滤膜过滤除菌。混匀后

立即使用或分装于-20°C或-80°C冻存, 避免反复冻融。一旦使用, 放到 4°C解冻, 保持冰冷且避光。

2) 注射量取决于注射方式, 具体如下:

注射方式	剂量
静脉注射(25-27gauge 针头)	按 10 µl/g 体重浓度, 加入相应体积的 15 mg/ml 荧光素工作液
腹腔注射(25-27gauge 针头)	按 10 µl/g 体重浓度, 加入相应体积的 15 mg/ml 荧光素工作液
肌肉注射(27gauge 针头)	50 µl, 浓度为 1-2 mg/ml 荧光素工作液
鼻内注射(pipette)	50 µl, 浓度为 3 mg/ml 荧光素工作液

3) 注射入体内 10-20min(待光信号达到最强稳定平台期), 再进行成像分析。

【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。

4. 储存条件

-20°C 储存, 避光。