

D-萤光素钾盐说明书

【产品描述】

D-萤光素钾盐是萤火虫萤光素酶(firefly luciferase)最常用的底物，在ATP、镁离子和氧气存在的条件下通过萤火虫萤光素酶的作用进行氧化脱羧反应发出波长约为560nm的蓝绿色生物萤光(bioluminescence)，反应原理图如下。D-Luciferin广泛应用于基于萤火虫萤光素酶的报告基因检测，包括表达萤火虫萤光素酶的细胞和组织样品裂解液的检测，以及表达萤火虫萤光素酶动物的活体成像分析(In Vivo Bioluminescence Imaging)和培养细胞的体外生物发光分析(In Vitro Bioluminescence Analysis)。

【使用说明】 (仅供参考)

1. 动物活体成像分析(以小鼠为例):

- (1) 用无菌的D-PBS(不含Ca²⁺和Mg²⁺)溶解本产品，配制成15mg/ml的D-萤光素钾盐溶液，0.2 μm滤膜过滤除菌。混匀后立即使用或分装后-20°C或-80°C保存，避免反复冻融。使用时注意避光。
- (2) D-萤光素钾盐的水溶性和脂溶性都非常好，很容易穿透细胞膜和血脑屏障，在体内扩散速度快，可通过腹腔注射或尾静脉注射进入动物体内。腹腔注射或尾静脉注射时，按照10 μl/g的体重浓度，向小鼠体内注射萤光素钾盐溶液，如20g的小鼠，注射200 μl共3.0mg D-萤光素钾盐；如果是肌肉注射，一般是注射50μl浓度为1-2mg/ml的D-萤光素钾盐工作液。
- (3) 注射入体内10-20min后，待萤光信号达到最强稳定平台期，再用适当仪器进行成像分析。

2. 体外生物发光分析:

- (1) 将本产品配制成30mg/ml的储存液(200X)。混匀后立即使用或分装后-20°C保存。
- (2) 用预热好的完全培养液1:200稀释D-萤光素钾盐储存液，使D-萤光素钾盐的终浓度为150 μg/ml (1X)。
- (3) 去除培养细胞的原有培养液。
- (4) 在成像前加入150 μg/ml D-萤光素钾盐工作液到细胞中，37°C孵育5分钟以让足量D-萤光素钾盐进入细胞内，随后立即用适当仪器进行成像分析。

注：本产品用于动物活体成像分析、体外生物发光检测的最佳工作浓度、检测时间请自行参考相关文献，或根据实验目的、所培养的特定细胞和组织等，通过预实验进行摸索和优化。

【注意事项】

1. 为避免反复冻融，本产品配制成溶液后建议适当分装后 -20°C 或 -80°C 保存。为防止氧化，如有条件，可以对储存液充氮气或氩气后保存。
2. 对于检测灵敏度要求特别高的实验，建议使用新鲜配制的本产品。
3. 注射方式、动物类型以及体重等都会影响体内荧光的信号强度及稳定性，建议每次实验都要做荧光素酶动力学曲线，确定最佳信号平台期和最佳的检测时间。
4. D-荧光素钾盐和D-荧光素钠盐都常用于动物活体成像分析和体外生物发光检测，两者效果基本相同，其主要的差别在于外形和溶解性，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。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，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。

警告:如果处理不当，本产品的某些成分可能会对健康造成危害。处理本产品时应采取适当的预防措施，包括穿戴防护服和眼镜。妥善处置。