

D-虫荧光素钾盐

包装规格

产品货号: ZT10014-25、ZT10014-100

规格: 25mg、100mg

储存条件

-20℃干燥避光保存,一年有效。

中文名: D-虫荧光素钾盐; 英文名: D-Luciferin, potassium salt

别名: (S)-2-(6-Hydroxy-2-benzothiazolyl)-2-thiazoline-4-carboxylic acid potassium salt, 4,5-Dihydro-2-(6-hydroxy-2-benzothiazolyl)-4-thiazolecarboxylic acid potassium salt,

Firefly luciferin potassium salt

结构式:

CAS#: 115144-35-9;分子式: C11H7N2KO3S2分子量: 318.41

性质: 外观:淡黄色粉末;溶解性:50mg/mL in water;纯度:≥99% (HPLC)

产品描述:

哺乳动物发光,一般是将萤火虫荧光素酶(firefly luciferase)基因整合到需观察细胞的染色体 DNA 上,以表达荧光素酶,培养出能稳定表达荧光素酶的细胞株,当细胞分裂、转移、分化时,荧光素酶也会得到持续稳定的表达。标记后的荧光素酶只有在活细胞内才会产生发光现象,并且发光强度与标记细胞的数目呈线性相关。除萤火虫荧光素酶外,有时也会用到海肾荧光素酶(renilla luciferase)。二者的底物不同,萤火虫荧光素酶的底物是荧光素(D-luciferin,常见钾盐或者钠盐)。二者的发光波长也不一样,前者发光波长在 540-600 nm,后者发光波长在 460-540nm。荧光素所发的光更容易透过组织,在体内代谢较慢,而且特异性好。所以大部分活体成像实验采用萤火虫荧光素酶基因作为报告基因。

用途及描述:

应用领域: 体外分析,活体成像分析和高灵敏度 ATP 分析。D-Luciferin 作为荧光素酶的底物,存在于多种发光生物体中。在 ATP 和荧光素酶的催化作用下,荧光素被氧化,产生蓝绿色的光(560nm),当底物过量时,产生的光量子数与荧光素酶的浓度呈正相关。编码荧光素酶的 Luc 基因是植物、细菌、哺乳动物细胞的常见报告基因。由于没有背景干扰,因此可以很容易检测出低至 0.02 pg 水平的荧光素酶。D-虫荧光素(D-Luciferin)是萤火虫荧光素酶底物,其量子效率为 0.88,是 Luminol 的 20 倍。反应原理:首先,在镁离子存在下荧光素酶使荧光素与 ATP 反应,接着它被氧化形成二氧杂环丁烷结构并发出黄绿色的光。Luciferin-luciferase 发光用于 ATP 监控以测定细胞活力以及细菌计数。它还用于报告基因检测。可与小动物活体成像系统配套使用,用于标记 LUC 基因后的体内活体荧光检测。

使用方法

1. 活体成像分析方法

(1)用 D-PBS(w/o Mg2+、Ca2+,不含钙、镁(细胞培养级))配置 D-Luciferin 工作液(15mg/mL)*,0.2 μ m 滤膜无菌过滤。 混匀后立即使用或分装于-20℃或-80℃冻存,避免反复冻融。一旦使用,放到 4℃解冻,保持冰冷且 避光。



(2)注射量: $10\mu L/g$ 的体重,如 10g 重小鼠,注射 $100\mu L$ 工作液(1.5 mg D-Luciferin)。 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 10µl/g 体重浓度,加入相应体积的 15mg/ml 荧光素工作液
腹腔注射(25-27gauge 针头)	按 10µl/g 体重浓度,加入相应体积的 15mg/ml 荧光素工作液
肌肉注射(27gauge 针头)	50μl , 浓度为 1-2mg/ml 荧光素工作液
鼻内注射(pipette)	50μl,浓度为 3mg/ml 荧光素工作液

(3)腹腔注射 10~20 分钟后(待光信号达到最强稳定平台期),上机进行图像分析。

注意: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。保存和操作的过程中都要避光。另外水溶性储存液过滤除菌后,可以-20℃或-80℃分装冻存,避免反复 冻融。如果有条件,对储存液充氮气或氩气(防止氧化),稳定性和保存时间更长,长达 1 年。 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。荧光素钾盐和荧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。 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

- 2. 体外分析方法
- 1.用无菌水配置 200×的 D-Luciferin 储备液(30mg/mL)*, 轻轻颠倒摇动至荧光素完全溶解,混匀后立即使用或分装后-20℃冻存。
- 2.将 D-luciferin , potassium salt 溶解于预热好的组织培养基中制备成浓度为 150 μ g/ml 的工作液。用组织培养基 1: 100 稀释储存液 , 配置工作液(终浓度 150 μ g/mL)。
- 3.去除培养细胞的培养基。
- 4.进行图像分析前,向细胞中添加 1× 的 D-Luciferin 工作液,进行图像分析**。
- * :溶解 D-Luciferin 时要完全。
- **:在图像分析前,将细胞进行37℃的短时间培养可以增加信号强度。

相关产品:

D-虫荧光素游离酸(D-Luciferin, free acid)、D-虫荧光素钾盐(D-Luciferin, potassium salt)和 D-虫荧光素钠盐(D-Luciferin, sodium salt),钾盐、钠盐的形式是最通用的,因为它们都易溶于水。钾盐也是活体动物检测使用的主要形式。它们的激发和发射波长分别为 328nm 和 533nm。

仅供科学研究使用,禁止用于它用