

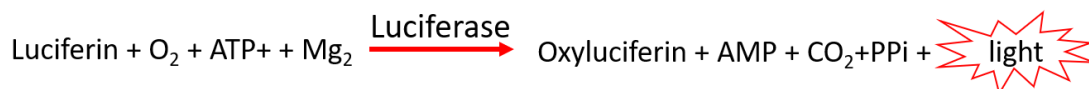
## D-Luciferin

### 1. 产品描述

D-Luciferin (D-萤光素) 是萤光素酶 (Luciferase) 的常用底物, 广泛用于生物发光成像技术。D-Luciferin 被广泛用于活体小鼠的无创成像, 也常用于体外研究, 包括萤光素酶和 ATP 水平分析、报告基因分析、高通量筛选和各种污染检测等。

体内可见光成像技术主要包括生物发光(bioluminescence)与荧光(fluorescence)成像两种技术。其中生物发光是基于萤光素酶报告基因系统中萤光素酶的发光。萤光素酶是自然界中能够产生生物荧光的酶的统称, 最常见的是萤火虫萤光素酶。编码萤光素酶的基因可以在体外转染到细胞染色体 DNA 上以表达萤光素酶。当细胞分裂和分化时, 萤光素酶也会得到持续稳定的表达。将标记好的细胞接种到实验动物体内, 当腹腔或静脉注射相应的底物后, 可迅速产生发光现象。萤光素酶基因广泛用作各种细胞中的报告基因。

萤光素酶的发光不需要激发光, 但需要底物。萤光素酶在 ATP 和氧存在的条件下, 催化底物发生氧化反应才可以发光。常见的萤光素酶有两种, 分别是萤火虫萤光素酶 (firefly luciferase, 编码基因是 luc) 和海肾萤光素酶 (Renilla luciferase, 编码基因是 Rluc)。二者的底物不一样, 前者的底物是 D-Luciferin, 后者的底物是 Coelenterazine。当被萤光素酶催化氧化时, 会在 560 nm 处产生化学发光。



萤光素、萤光素酶和萤火虫萤光素酶也经常被称作荧光素、荧光素酶和萤火虫荧光素酶。

D-萤光素目前有三种形式: D-Luciferin (游离酸), D-Luciferin 钾盐 (货号 C3654), 以及 D-Luciferin 钠盐 (货号 B8311)。D-Luciferin (游离酸) 在水以及缓冲体系中的溶解性都很弱, 除非溶于碱溶液如 NaOH 和 KOH 溶液。钠盐和钾盐形式的 D-Luciferin 能够非常容易且快速的溶于水或者缓冲液中。配成液体后的三种形式, 在绝大多数的应用上都没有实质性的差别。

### 2. 产品信息

| 货号    | 产品名称        | 规格                  |
|-------|-------------|---------------------|
| B6040 | D-Luciferin | 5mg/10mg/50mg/200mg |

### 3. 使用方法

#### (1) 体外生物发光检测

1) 用碱溶液 (如 NaOH, KOH 溶液) 溶解 D-萤光素, 配制成 30 mg/mL 的储存液, 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, 注意避光, 避免反复冻融。使用者可根据自身实验体系调整储存液浓度。

**【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) 用预热好的细胞培养液以 1:200 稀释储存液，配制工作液（终浓度 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）。使用者可以根据预实验或参考文献选择合适工作浓度。
- 3) 去除细胞培养液直至无残留。
- 4) 向细胞内添加 D-萤光素工作液，然后进行图像分析（或者细胞放在 37 $^{\circ}\text{C}$  短时间孵育后检测可增强信号）。

## （2）活体生物发光检测

- 1) 用碱溶液（如 NaOH, KOH 溶液）配制 D-萤光素溶液（15  $\text{mg}/\text{mL}$ ），并调节 pH 至 7.4，用 0.2  $\mu\text{m}$  滤膜过滤除菌。混匀后立即使用或分装于 -20 $^{\circ}\text{C}$  或 -80 $^{\circ}\text{C}$  冻存，注意避光，避免反复冻融。一旦使用，放到 4 $^{\circ}\text{C}$  解冻，保持冰冷且避光。
- 2) 选择不同的注射剂量和注射方式将 D-萤光素工作液注射到动物体内。注射量取决于注射方式，具体如下：

| 注射方式                | 注射剂量   |
|---------------------|--|
| 静脉注射（25-27gauge 针头） | 按 10 $\mu\text{L}/\text{g}$ 体重浓度，加入相应体积的 15 $\text{mg}/\text{mL}$ D-萤光素工作液 |
| 腹腔注射（25-27gauge 针头） | 按 10 $\mu\text{L}/\text{g}$ 体重浓度，加入相应体积的 15 $\text{mg}/\text{mL}$ D-萤光素工作液 |
| 肌肉注射（27gauge 针头）    | 50 $\mu\text{L}$ ，浓度为 1-2 $\text{mg}/\text{mL}$ D-萤光素工作液                   |
| 鼻内注射（pipette）       | 50 $\mu\text{L}$ ，浓度为 3 $\text{mg}/\text{mL}$ D-萤光素工作液                     |

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

**【注】：**建议对每只动物模型都需要建立萤光素酶动力学曲线，从而确定最高信号检测时间和信号平台期。

## 注意事项

- 1) D-Luciferin 配制成溶液后建议适当分装后 -20 $^{\circ}\text{C}$  或 -80 $^{\circ}\text{C}$  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。如果对检测灵敏度要求特别高，建议使用新鲜配制的溶液。
- 2) 注射方式、动物类型以及体重等都会影响体内光的信号强度及稳定性，建议每次实验都要做萤光素酶动力学曲线，确定最佳信号平台期和最佳的检测时间。
- 3) 如果要进行 ATP 的检测，尽量避免外源 ATP 的污染，如操作时戴手套并使用 ATP-free 的实验耗材，在进行 D-Luciferin 的溶解时应使用 ATP-free 无菌水。
- 4) D-Luciferin（游离酸），D-Luciferin 钾盐（货号 C3654），以及 D-Luciferin 钠盐（货号 B8311）三种形式萤光素的差别主要在于外形和溶解性。D-Luciferin（游离酸）在水以及缓冲体系中的溶解性都很弱，除非溶于碱溶液如 NaOH 和 KOH 溶液。D-Luciferin 钾盐和 D-Luciferin 钠盐的水溶性很好。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) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。