

D-Luciferin (potassium salt)

1. 产品描述

D-Luciferin (potassium salt) 是 D-Luciferin (D-萤光素) 的钾盐形式, 是萤火虫萤光素酶的底物, 用于生物发光成像。

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。



D-Luciferin (D-萤光素) 作为萤火虫萤光素酶的底物, 当被萤光素酶催化氧化时, 会在 560 nm 处产生化学发光。被广泛用于活体小鼠的无创成像。萤光素、萤光素酶和萤火虫萤光素酶也经常被称为萤光素、萤光素酶和萤火虫萤光素酶。

2. 产品信息

| 货号 | 产品名称 | 规格 |
|-------|------------------------------|---------------------|
| C3654 | D-Luciferin (potassium salt) | 50mg/100mg/500mg/1g |

3. 使用方法

(1) 体外生物发光检测

- 1) 储存液配制: 产品以粉末形式提供, 开盖前需要经过瞬时离心。如果产品是从冰箱中取出则需要先置于室温进行回温。取 15 mg D-Luciferin 钾盐粉末于 1.5 mL 离心管中, 加入 1 mL 双蒸水, 室温颠倒混匀使其充分溶解, 即得到浓度为 15 mg/mL 的储存液。储存液配制的浓度可以根据实验需求进行调整。可分装储存于 -20°C 或 -80°C, 避免反复冻融。建议立即使用。
- 2) 工作液配制: 将冻存的储存液置于室温充分融化和回温, 之后用预热的培养液稀释储存液到需要的工作液浓度 (0.15-0.3 mg/mL), 充分混匀。使用者可根据自身实验调整工作液浓度。
- 3) 取出已生长至合适密度的细胞, 去除细胞培养液。
- 4) 向细胞内添加 D-Luciferin 工作液, 37°C 细胞培养箱孵育 5-10 min, 然后进行图像分析。

(2)活体生物反光检测

- 1) 用无菌的 DPBS (w/o Mg²⁺、Ca²⁺) 配制 15 mg/mL 的 D-Luciferin 储存液，混匀。
 - 2) 用0.2 μm 滤膜过滤除菌。可分装于-20℃或-80℃避光保存，避免反复冻融。建议立即使用。
 - 3) 腹腔注射 (i.p.)，按照 150 mg/kg 的 D-Luciferin/体重浓度进行注射。例如，对于一只 10 g 重的小鼠，注射 100 μL 以递送 1.5 mg D-Luciferin。
 - 4) 注射入体内 10-15 min (待光信号达到最强稳定平台期) 后进行成像分析。
- 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。

(3)萤光素报告基因检测(建议使用试剂盒K1136与K2236)

- 1) 用双蒸水制备浓度为 50 mM 的 D-Luciferin 储存液。注意避光，可分装储存于-20℃或-80℃，避免反复冻融。建议立即使用。
- 2) 制备 1 mM 的 D-Luciferin 工作溶液。该溶液体系含有 3 mM ATP, 1 mM DTT, 15 mM MgSO₄·2H₂O, 15 mM Tricine 缓冲液，pH 7.8。
- 3) 裂解细胞。用移液器吸取5-10 μL 细胞裂解液到荧光光度计管中。【注】：自备裂解液。
- 4) 取200 μL D-Luciferin 工作溶液加到荧光光度计管中。
- 5) 室温测量 2-60s 时间内的光输出。

注意事项

- 1) D-Luciferin 配制成溶液后建议适当分装后-20℃或-80℃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) 在进行 D-Luciferin 的溶解时，应使用无钙镁离子的 DPBS，因钙镁离子可能会抑制萤光素酶的活性，此外镁离子可能会对萤光素的氧化造成影响，从而影响检测。
- 5) D-Luciferin 钾盐和 D-Luciferin 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。
- 6) 萤光素报告基因检测，建议使用试剂盒Dual Luciferase Assay System(K1136)与 Single Firefly Luciferase Reporter Gene Assay Kit(K2236)。
- 7) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作