

V 1.0.2

## D-Luciferin Firefly-free acid

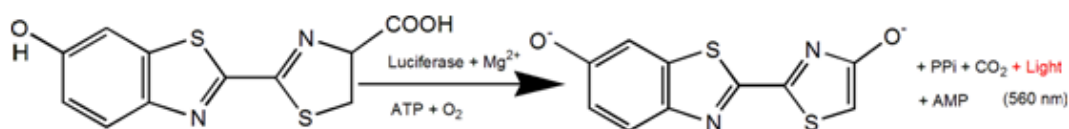
### D-萤火虫荧光素, 游离酸

D-荧光素 (D-Luciferin) 是荧光素酶 (Luciferase) 的常用底物, 普遍用于整个生物技术领域, 特别是体内活体成像技术。其作用机制是在 ATP 和荧光素酶的作用下, 荧光素 (底物) 能够被氧化发光。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。

#### 应用

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。

#### 结构式



#### 产品性质

货号	GM-040601-100mg、GM-040601-500mg、GM-040601-1g
CAS NO.	2591-17-5
分子式	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S <sub>2</sub>
分子量	280.33 g/mol
化学名称	S)-4,5-Dihydro-2-(6-hydroxy-2-benzothiazolyl)-4-thiazolecarboxylic acid; D-Luciferin Firefly, free acid
纯度	≥95%
外观	类白色至浅黄色粉末
溶解性	本品难溶于水, 可加入稀碱促进其溶解。

#### 运输和保存方法

冰袋运输; -20℃干燥避光保存; 有效期一年。

#### 使用方法

##### 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℃ 或 -80℃ 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 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）。
- 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 $\times$ 荧光素工作液，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 活体成像分析

- 1) 用稀碱（如 NaOH, KOH 溶液）配制 D-荧光素工作液（15  $\text{mg}/\text{mL}$ ），并调节 pH 至 7.4，0.2  $\mu\text{m}$  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，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) 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 $\mu\text{L}/\text{g}$ 体重浓度，加入相应体积的 15 $\text{mg}/\text{mL}$ 荧光素工作液
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 $\text{mg}/\text{mL}$ 荧光素工作液
肌肉注射（27gauge 针头）	50 $\mu\text{L}$ ，浓度为 1-2 $\text{mg}/\text{mL}$ 荧光素工作液
鼻内注射（pipette）	50 $\mu\text{L}$ ，浓度为 3 $\text{mg}/\text{mL}$ 荧光素工作液

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

**【注】**：建议对每种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。

### 注意事项

- 1) 本品（firefly luciferin）和甲虫荧光素（beetle luciferin）都是指化合物(S)-2-(6-Hydroxy-2-benzothiazolyl)-2-thiazoline-4-carboxylic acid，仅仅是不同公司在命名上的差异。
- 2) 本品保存和操作的过程中都要避光。另外储存液过滤除菌后，可以 -20 $^{\circ}\text{C}$  或 -80 $^{\circ}\text{C}$  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。
- 3) 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。
- 4) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。