



D-Luciferin, Potassium Salt D-荧光素（钾盐）

产品简介

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。作用机制是在 ATP 和荧光素酶的作用下，D-荧光素（底物）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）的质粒转染进入细胞后，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。

本品 D-Luciferin 荧光素钾盐为分子生物学级（超纯）>99% (HPLC) 级别。

基本应用

D-荧光素也常用于体外研究，包括荧光素酶和 ATP 水平分析；报告基因分析；高通量测序和各种污染检测。

常见商业化类型的差异（荧光素钾，钠，游离酸）：

目前市场上有三种产品形式，D-荧光素（游离酸），D-荧光素（钠盐），和 D-荧光素（钾盐）。三种产品主要差别在于溶解特性：

D-荧光素（游离酸）：	英文名称：D-Luciferin Firefly, Free Acid，分子式： $C_{11}H_8N_2O_3S_2$ 分子量：280.33 g/mol，外观：类白色至浅黄色粉末，溶解性：在水以及缓冲体系内的溶解性都很弱，除非溶于弱碱如 NaOH 和 KOH 溶液。溶于甲醇（10 mg/ml）和 DMSO（50 mg/ml）
D-荧光素（钠盐）：	英文名称：D-Luciferin, Sodium Salt，分子式： $NaC_{11}H_7N_2O_3S_2 \cdot H_2O$ 分子量：320.32 g/mol，外观：淡黄色粉末，溶解性：易溶于水（100 mg/ml），D-荧光素（钠盐）和 D-荧光素（钾盐）能够非常容易且快速的溶入水或者缓冲液中，使用方便，溶剂无毒性，特别适合体内实验。配成溶液后的三种产品，在绝大多数应用上都没有实质性的差别。淡黄色粉末
D-荧光素（钾盐）：	英文名称：D-Luciferin, Potassium Salt，分子式： $C_{11}H_7N_2O_3S_2K$ 分子量：318.42 g/mol，外观：淡黄色粉末，溶解性：易溶于水（100 mg/ml），D-荧光素（钠盐）和 D-荧光素（钾盐）基本上没有差别，主要是使用习惯等因素影响。整体来看，钾盐的应用文献明显多于钠盐。

产品组成

名称	编号	FS1231	FS1231	FS1231	FS1231	Storage
D-Luciferin, Potassium Salt D- 荧光素（钾盐）		100mg	500mg	1g	5g	-20℃干燥保存
使用说明书		1 份				

基本特性

- 1) CAS: 115144-35-9
- 2) 化学名: 4,5-Dihydro-2-(6-hydroxy-2-benzothiazolyl)-4-thiazolecarboxylic acid potassium salt, D-Luciferin firefly, potassium salt
- 3) 分子式: $C_{11}H_7N_2O_3S_2K$
- 4) 分子量: 318.42 g/mol
- 5) 纯度: >99% (HPLC), 分子生物学级（超纯）
- 6) 外观: 浅黄色至黄色粉末



7) 溶解性：溶于水（60 mg/ml）

使用方法

A. 体外生物发光检测

1) 储存液制备

用蒸馏水溶解 D-荧光素（钠盐），配制成 15mg/ml 的储存液（100×），0.2um 滤膜过滤除菌。混匀后立即使用或分装于-20℃或-80℃冻存，避免反复冻融，1 年有效。建议使用的工作液浓度为 150μg/ml（相当于 468μM）。

2) 荧光素酶反应缓冲液制备

配方【1×】：100mM Tris-HCl（pH 7.8），5mM MgCl₂，250μM CoA，150μM ATP。具体缓冲液组成可参考其他文献资料来调整。按照以上配方制备荧光素酶反应缓冲液（2×）。

3) 操作使用：避光回温解冻。去除培养细胞的培养基直至无残留。待图像分析前，向细胞内添加 1×荧光素工作液，然后进行图像分析（或者细胞放在 37℃短时间孵育约 5min 后检测可增强信号）

4) 萤火虫荧光信号检测

【注①】：萤火虫荧光信号的检测方法大体上取决于冷光测定仪（luminometer）类型（是手动型荧光计、单管注射型或者酶标板读数型荧光计）。根据特定发光测定仪，来考虑注射用量和程序设置。

【注②】：需设置不含荧光素酶的孔（用作阴性对照），以测定背景荧光。

例：注射式冷光测定仪（injectible luminometer，单样或微孔板，200μl 终体积）

a) 吸取 100μl 荧光素酶反应缓冲液（2×）到一干净的冷光测定仪比色皿或 96 孔板的各孔（最好使用全白平底 96 孔板）；

b) 吸取 50~98μl 裂解上清到皿或孔内；

c) 如果有需要，用水来补足使得总体积到 198μl；

d) 设置程序注射 2μl 荧光素储存液（使工作浓度 150μg/ml），程序：2~5 秒延迟（delay），之后 10s 测定。

B. 活体成像分析

(1) 1) 用无菌的 PBS（CAT:#FSH055）（w/o Mg²⁺）或者 D-PBS（CAT:#FSH017）（w/o Mg²⁺）配制 D-荧光素（钠盐）工作液（15mg/ml），0.2μm 滤膜过滤除菌。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。【注】：钙镁离子可能会抑制某些蛋白酶的活性。此外 Mg²⁺是催化荧光氧化的重要因素，Ca²⁺是和腔肠素氧化有关的离子。其他的盐溶液也可用来溶解荧光素，但要避免溶液中的阳离子对实验造成影响。推荐用不含 Ca²⁺或 Mg²⁺离子的磷酸盐缓冲液。

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（25-27 gauge 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（25-27 gauge 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（27 gauge 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) 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。

荧光素可通过腹腔注射或尾部静脉注射注入小鼠体内。约 1 min 可扩散到小鼠全身。大部分情况下使用荧光素浓度为 150 mg/kg。对于 20 g 的小鼠约使用 3 mg 的荧光素即可。对于腹腔注射来讲，扩散较慢，开始发光较慢，持续发光时间较长。对于荧光素的尾部静脉注射，扩散快，开始发光快，但发光持续时间较短。

注意事项

(2) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。