

D-Luciferin Firefly, Free Acid D-萤火虫荧光素（游离酸）

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5894-250mg	D-Luciferin Firefly, Free Acid D-萤火虫荧光素（游离酸）	250mg
NBS5894-500mg	D-Luciferin Firefly, Free Acid D-萤火虫荧光素（游离酸）	500mg
NBS5894-1g	D-Luciferin Firefly, Free Acid D-萤火虫荧光素（游离酸）	1g

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，产生的光量子数与荧光素酶的浓度呈正相关性。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。

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。目前有三种产品形式：D-荧光素（游离酸），D-荧光素盐（钠盐和钾盐）。主要差别在于溶解特性：

- 1) D-荧光素（游离酸）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）。
- 2) D-荧光素（钠盐）和 D-荧光素（钾盐）能够非常容易且快速的溶于水或者缓冲液中，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。
- 3) 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。

基本特性：

- 1) CAS NO: 2591-17-5
- 2) 化学名: (S)-4,5-Dihydro-2-(6-hydroxy-2-benzothiazolyl)-4-thiazolecarboxylic acid; D-Luciferin Firefly, free acid D-萤火虫荧光素游离酸，D-甲虫荧光素游离酸；

- 3) 分子式: C₁₁H₈N₂O₃S₂
- 4) 分子量: 280.32 g/mol
- 5) 纯度: > 99% (HPLC)
- 6) 外观: 类白色至浅黄色粉末
- 7) 溶解性: 溶于甲醇 (10 mg/ml) 和 DMSO (50mg/ml), 溶于弱碱, 微溶于水

保存条件:

-20°C干燥避光储存, 有效期 2 年。

产品使用:

A. 体外生物发光检测

1. 储存液制备

【注意】: 建议大量实验前先取少量原料 (D-荧光素游离酸) 溶于你的缓冲液, 以测试其溶解性。

【配置方法】: 要溶解萤火虫荧光素游离酸到生理盐中, 首先用 NaOH 或 KOH 调整缓冲液到预测的摩尔碱度, 然后加入 D-荧光素游离酸 (如 15mg/ml), 边搅拌边促进溶解。如果仍有沉淀, 调整 pH 到更高直至完全溶解。最后用酸调整 pH 到所需值。混匀后立即使用或分装于-80°C避光冻存, 避免反复冻融。

2. 荧光素酶反应缓冲液制备

2.1 配方【1×, 参考 Yuichi Oba, et al., 2003】: 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. 收集细胞裂解上清 (荧光素酶表达)

根据检测的细胞类型, 选择合适的裂解液进行细胞裂解, 离心收集上清后续检测待用。

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 50~98 μ l 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 198 μ l;
- d) 设置程序注射 2 μ l 荧光素储存液 (使工作浓度 150 μ g/ml), 程序: 2~5 秒延迟 (delay), 之后 10s 测定。

B. 活体成像分析

1) 工作液准备: 准备少量的 PBS (w/o Mg^{2+}), pH=12 以及 PBS (w/o Mg^{2+}), pH=2 缓冲液。先取 10mg D-荧光素游离酸到 165ml PBS (w/o Mg^{2+}), pH=12, 充分溶解后, 再加入 165ml PBS (w/o Mg^{2+}), pH=2 中和溶液, 混匀得到 30mg/ml 的工作液。0.2 μ m 滤膜过滤除菌。混匀后立即使用或分装于-80 $^{\circ}$ C避光冻存, 避免反复冻融。一旦使用, 放到 4 $^{\circ}$ C解冻, 保持冰冷且避光。

2) 注射方式: 适用于静脉注射, 腹腔注射, 肌肉注射和鼻内注射等, 根据具体方式调整注射体积, 最常用的注射浓度为 150mg/kg 体重。

3) 检测方式: 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。

注意事项:

1. 萤火虫荧光素 (firefly luciferin) 和甲虫荧光素 (beetle luciferin) 皆相同化合物, 即: (S)-2-(6-Hydroxy-2- benzothiazolyl)-2-thiazoline-4-carboxylic acid, 仅不同公司在命名上的差异。
2. 萤火虫荧光素 (firefly luciferin) 在保存和操作的过程中需要避光。另, 水溶性储存液经过滤除菌后, 可置于-20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C分装冻存, 避免反复冻融。若条件允许, 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. 萤火虫荧光素 (firefly luciferin) 的注射方式, 以及动物类型、体重等都会影响荧光信号发射, 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检测时间。
4. 紫外线和潮气会产生脱氢荧光素, 是一种荧光素酶的竞争性抑制剂。因此需小心保存和处理 D-荧光素。最好-20 $^{\circ}$ C避光干燥保存。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!

相关产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS5894-250mg</u>	<u>D-Luciferin Firefly, Free Acid D-萤火虫荧光素 (游离酸)</u>	250mg
<u>NBS5895-100mg</u>	<u>D-Luciferin, Sodium Salt D-荧光素钠盐</u>	100mg
<u>NBS5896-100mg</u>	<u>D-Luciferin, Potassium Salt D-荧光素钾盐</u>	100mg
<u>NBS5897-10mg</u>	<u>DMNPE-caged Luciferin D-荧光素 (DMNPE 笼闭)</u>	10mg