

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01063

产品介绍

活体成像技术 (Optical in Vivo Imaging) 目前主要采用生物发光 (Bioluminescence) 与荧光(Fluorescence) 两种技术, 生物发光是基于萤光素酶能催化底物化学发光的原理, 将体外能稳定表达萤光素酶的细胞株植入动物体内, 与后期注射入体内的底物发生反应, 利用光学系统检测光强度, 间接反映出细胞数量的变化或细胞的定位。这项技术已被广泛应用于多个领域, 最常用的有肿瘤或疾病动物模型的建立, 并可用于病毒学研究、siRNA 研究、干细胞研究、蛋白质相互作用研究等。

D-萤光素普遍用于整个生物技术领域, 特别是体内活体成像技术。在 ATP 和萤光素酶的作用下, 萤光素被氧化, 可以在 560 nm 检测到其化学发光。Luciferin 由 Luc 基因编码, 该基因作为报告基因在多种细胞中存在。由于化学发光的低背景性, luc 基因在很低的表达水平下就可以被监测到。此外, 萤光素/萤光素酶被用来测量 10-15 摩尔量的 ATP。检测原理见图 1。

本产品推荐多功能酶标仪的化学模块进行检测。

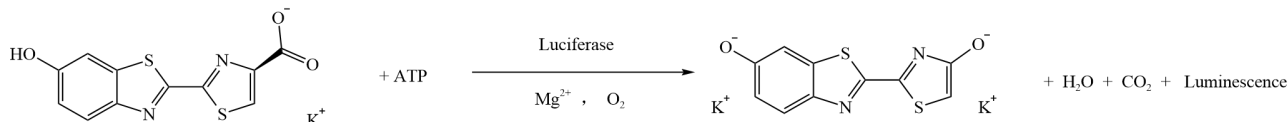


图 1 检测原理图

应用范围

活细胞组织或生物体内 Luc 标记基因和萤光素酶-融合基因体内/体外表达的成像分析、报告基因分析、免疫分析、ATP 萤光卫生监测分析

储运条件

-20 °C 干燥避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

产品特点

灵敏度高: 能够检测最低 10-15 mol 的萤光素酶;

线性范围广: 酶的浓度线性范围可达 8 个数量级。

产品参数

外观: 可溶于水的浅黄色固体

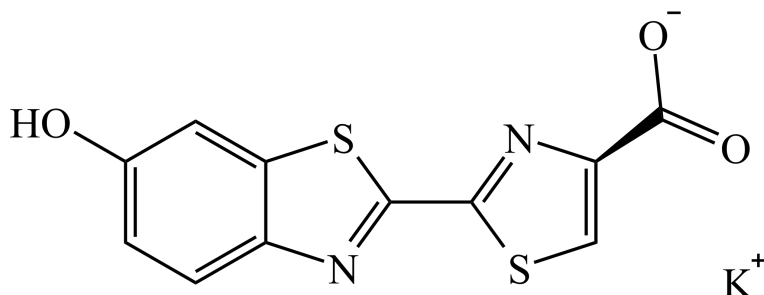
Ex/Em: 328/533 nm

CAS 号: 115144-35-9

分子式: C₁₁H₇N₂O₃S₂K

分子量: 318.4

分子结构图：



注意事项

- 1.D-萤光素钾盐 样品的背景荧光主要来源于萤光素。
- 2.D-萤光素钾盐在水中的溶解度可达 100 mM，请使用的溶剂是不含 ATP 的无菌水，并且立即使用或者分装保存于 -20 °C。
- 3.本产品可以用于检测报告基因和 ATP 检测。
- 4.如果进行 ATP 分析，请选择不含 ATP 的无菌水和试剂。
- 5.本产品使用与大部分的细胞类型样本和动物模型。
- 6.本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品和药品，不得存放于普通住宅内。
- 7.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

- 1.耗材
1.5 mL 离心管
- 2.试剂
(1) ddH₂O (2) 抗荧光淬灭剂

操作步骤

- 1.体外发光检测
(1) 用 330 μL 无菌水溶解 10 mg D-萤光素钾盐，配制成 100 mM 的储存液。混匀后立即使用或分装后 -20 °C 冻存。
(2) 用预热好的细胞培养基稀释 D-萤光素钾盐储存液，配置成工作液 (0.5~1 mM)。

注：不同的细胞样本需要的 D-萤光素钾盐的浓度可能不同，请进行预实验摸索最有条件。

- (3) 去除培养细胞的培养基。
(4) 向细胞内添加适量萤光素工作液，在 37 °C 孵育 5~10 min，然后进行图像分析。

2.活体成像分析

- (1) 用无菌的 DPBS (无 Mg²⁺ 和 Ca²⁺) 配制 D-萤光素钾盐工作液 (15 mg/mL)，即向 10 mg D-萤光素钾盐中，加入 667 μL DPBS，0.2 μm 滤膜过滤除菌。
(2) 参照下表，根据不同的注射方式，注射不同的体积。
(3) 注射入体内 5~10 min 后，进行成像分析。

注：每种动物模型需要进行萤光素的动力学研究，以确定信号峰值时间。

注射方式	注射剂量
静脉注射 (25~27 gauge 针头)	按 10 μL/g 体重浓度，加入相应体积的 15 mg/mL 萤光素工作液
腹腔注射 (25~27 gauge 针头)	按 10 μL/g 体重浓度，加入相应体积的 15 mg/mL 萤光素工作液
肌肉注射 (27 gauge 针头)	50 μL，浓度为 1~2 mg/mL 萤光素工作液
鼻内注射 (pipette)	50 μL，浓度为 3 mg/mL 萤光素工作液