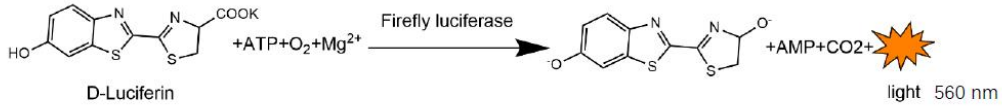


## CHASELECTION D-荧光素钾盐使用说明书

## 产品概述:

D-荧光素是荧光素酶的常用底物, 在  $Mg^{2+}$ 、ATP 存在条件下与荧光素酶发生反应, 生成二氧杂环丁烷结构, 并产生发光现象。在荧光素过量条件下, 产生的光子数与酶的浓度呈正相关性。这类发光反应可用于启动子优化, 药物筛选, 细胞 ATP 水平分析等实验。



D-荧光素钾盐拥有较好的水溶性和脂溶性, 相较于 D-荧光素 (游离酸) 能更好应用于体外活细胞和体内活体生物发光成像等研究。

## 产品信息:

产品货号	名称	规格
CY057F1000	D-荧光素钾盐	1g

## 产品用途:

报告基因分析  
 细胞体外生物发光分析  
 体内活体成像分析  
 高灵敏度 ATP 分析  
 其他荧光素酶及其基因相关的研究

## 贮存条件及效期:

-20°C 避光干燥保存, 有效期 1 年。冰袋运输。  
 工作液现配现用, 储存液 -20°C 分装储存, 避免反复冻融, 在 3 个月内使用。

## 产品性质:

产品别名	D-虫荧光素钾盐; 5-氟-荧光素
CAS 号	115144-35-9
分子式	C <sub>11</sub> H <sub>7</sub> N <sub>2</sub> KO <sub>3</sub> S <sub>2</sub>
分子量	318.4
外观	淡黄色粉末
溶解性	易溶于水
纯度 (HPLC)	≥99%

## 产品使用说明:

## 1. 体外生物发光分析

## 1) 储存液的制备

将 1.0g D-荧光素钾盐溶解于 33.3mL 无菌水中配制成 30mg/mL 的储存液, 或配制单次实验所需的 D-荧光素钾盐溶液。

## 2) 体外活细胞生物发光检测

- a. 接种外源过表达萤火虫萤光素酶的细胞在培养板上;
- b. 将配制好的 D-萤光素钾盐储存液用细胞培养基稀释成 150 $\mu$ g/ml 的工作液;
- c. 移除细胞培养板中培养基, 加入 D-萤光素钾盐工作液于 37 $^{\circ}$ C 孵育 10min 后用于细胞成像。

## 2. 体内活体成像分析

### 1) D-萤光素钾盐溶液制备

将 1.0g D-萤光素钾盐在 DPBS (w/o  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) 中溶解配制成 15mg/mL, 或配制单次实验所需的 D-萤光素钾盐溶液, 使用 0.2  $\mu$ m 滤膜过滤除菌。

### 2) 体内活体生物发光的检测

- a. 以 10 $\mu$ L/g 体重确定注射量。每只小鼠接受 150 mg D-萤光素钾盐/kg 体重 (如对于体重为 10 g 的小鼠, 需要注射 100  $\mu$ L 以提供 1.5 mg D-萤光素钾盐);
- b. 在活体成像前 10-15min 腹腔注射 D-萤光素钾盐溶液, 或根据动力学曲线确定具体时间。

## 3. 模型动物萤光素酶活性的动力学曲线

- 1) 将 D-萤光素钾盐以 15mg/ml 溶解于 DPBS (w/o  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) 中, 腹腔注射, 工作剂量为 150mg /kg。
- 2) 等待 3min, 然后给动物进行常规麻醉(气麻、针麻皆可);
- 3) 将麻醉后的动物放置在成像室并拍摄第一张图像。
- 4) 每 5-10min 连续拍照, 持续 40min, 获得模型动物的 D-萤光素钾盐吸收动力学曲线。
- 5) 根据动力学曲线确定最佳成像时间。

### 注意事项:

- 1) 最佳成像时间受注射方式、动物类型以及体重等的影响, 因此建议每次实验都要做萤光素酶动力学曲线, 以确定最佳信号平台期和最佳检测时间。
- 2) 如果要进行 ATP 相关检测, 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, 在进行萤光素的溶解时应使用 ATP-free 无菌水。
- 3) 本品需进行避光操作和保存。储存液过滤除菌后可分装于-20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C冻存。如果有条件, 可对储存液充入氮气或氩气(防止氧化)。
- 4) 在进行 D-萤光素钾盐的溶解时, 应使用无钙镁离子的 DPBS, 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) 本产品仅作科研用途!