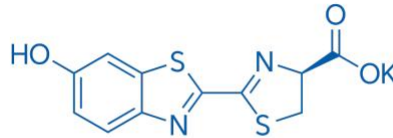


CHASELECTION D-萤光素钾盐（基础版）使用说明书

产品概述：

D-萤光素钾盐是萤光素酶的水溶性底物，存在于多种发光生物体中。在ATP和萤光素酶的催化作用下，D-萤光素钾被氧化，产生蓝绿色的光（560nm），当底物过量时，产生的光量子数与萤光素酶的浓度呈正相关。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-萤光素钾盐拥有较好的水溶性和脂溶性，相较于D-萤光素（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
CY191F0100	D-萤光素钾盐（基础版）	0.1g
CY191F1000	D-萤光素钾盐（基础版）	1 g
CY191F5000	D-萤光素钾盐（基础版）	5 g
CY191F001W	D-萤光素钾盐（基础版）	10 g

产品性质：

产品别名	D-虫萤光素钾盐； 5-氟-萤光素
CAS 号	115144-35-9
分子式	C ₁₁ H ₇ N ₂ KO ₃ S ₂
分子量	318.4
外观	浅黄色固体
溶解性	易溶于水
纯度	≥99%

贮存条件及效期：

-20℃避光干燥保存，有效期 2 年。冰袋运输。

工作液现配现用，储存液-20℃分装储存，避免反复冻融，在 3 个月内使用。

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

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 $\mu\text{g/ml}$ 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°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 1.0 g D-萤光素钾盐在 DPBS (w/o Ca^{2+} , 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 μm 滤膜过滤除菌。

2) 体内活体生物发光的检测

- a. 以 10 $\mu\text{L/g}$ 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 μL 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 Ca^{2+} , 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°C或-80°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!