

## D-荧光素钾盐 使用说明书

产品名称	单位	货号
D-荧光素钾盐	5mg	L48264-01
D-荧光素钾盐	25mg	L48264-05
D-荧光素钾盐	500mg	L48264-100
D-荧光素钾盐	1000mg	L48264-200

**【储存条件】** 长期保存，请置于-20°C，有效期 12 个月。经常使用应适量分装，避免反复冻融。

### 【产品简介】

一种发光杂环化合物，存在于生物发光的生物体中，如萤火虫。在含有三磷酸腺苷的情况下，通过荧光素酶氧化脱羧产生光。可用于荧光素酶生物发光成像和细胞高通量筛选应用。

### 【产品参数】

中文名称：D-荧光素钾盐

英文名称：D-Luciferin potassium salt

别名：(S)-4,5-二氢-2-(6-羟基苯并噻唑-2-基)噻唑-4-甲酸钾盐 (S)-2-(6-Hydroxy-2-benzothiazolyl)-2-thiazoline-4-carboxylic acid potassium salt, 4,5-Dihydro-2-(6-hydroxy-2-benzothiazolyl)-4-thiazolecarboxylic acid potassium salt Firefly luciferin potassium salt.

CAS No: 115144-35-9

分子式 Formula: C<sub>11</sub>H<sub>7</sub>KN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>

分子量 MW: 318.41

**【溶解性】** 溶于水（10mg/mL），或 DMSO(10mg/mL)，或 pH 值 7.2 的 PBS（10mg/mL）。

### 【使用方法】

一、体外生物发光试验荧光素试剂的制备：D-荧光素，钾盐，无菌纯水，完全培养基（自行配置）

1、用无菌水制备 100X 荧光素原液（15mg/ml），轻轻颠倒摇动至荧光素完全溶解。注射器滤膜（0.2 μm）过滤除菌，可立即使用或分装后-20°C冻存。

2、将 D-luciferin potassium salt 溶解于预热好的组织培养基中制备成浓度为 150 μg/ml 的工作液。用组织培养基 1 : 100 稀释储存液，配置工作液(终浓度 150μg/mL)

3、去除培养细胞的培养基

图像分析前，向细胞培养板中添加 1×荧光素工作液，然后进行图像分析。

**注意：成像前在 37°C 下对细胞进行短时间孵育可增强信号。**

## 二、活体成像分析：D-荧光素，钾盐，D-PBS,不含钙、镁

### 1、配制溶液

使用无菌 D-PBS (w/o Ca<sup>2+</sup> ;Mg<sup>2+</sup>) 配制 D-荧光素钾盐溶液 (15mg/ml), 0.22µm 滤膜过滤除菌 (避光), 分装后于-20°C或-80°C冷冻保存, 避免反复冻融。使用时 4°C融化, 实验前平衡至室温 (避光)

### 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 (25-27gauge 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 (25-27gauge 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 (27gauge 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。保存和操作的过程中都要避光。另外水溶性储存液过滤除菌后, 可以-20°C或-80°C分装冻存, 避免反复冻融。如果有条件, 对储存液充氮气或氩气 (防止氧化), 稳定性和保存时间更长。

注射方式, 动物类型以及体重等都会影响信号的发射, 因此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的检测时间。荧光素钾盐和荧光素钠盐应用上没有差别, 两者的差别在于物理性状上如外形和溶解性。钠盐的水溶性高于钾盐。从目前发表的文献来看, 钾盐的使用率远高于钠盐, 尤其是体内实验。两者功效相同。

## 三、细胞实验 D-荧光素钾盐体外生物发光试验: D-荧光素钾盐, 无菌纯水, 完全培养基 (自行配制)

1、贴壁细胞: 将细胞接种于培养板中孵育数小时或过夜, 使细胞贴壁。悬浮细胞: 可以将细胞接种于培养板后直接进行后续操作, 无需孵育。如果倍增时间相对较短, 则应考虑倍增时间进行细胞计数。

2、将 15mg 荧光素钾盐溶解于 1ml 无菌水中, 制备成 100X 荧光素储备液 (15mg/ml), 轻轻颠倒摇动至荧光素钾盐完全溶解。混匀后立即使用或分装后-20°C冻存。

3、用预热好的细胞培养基 1 : 100 稀释 100X 荧光素储备液 (15mg/ml), 配制成分光素工作液 (终浓度 150µg/ml), 即配即用。

4、去除培养板中的培养基。

5、在成像前, 将适量荧光素工作液加入细胞中, 然后进行图像分析。

**注意:** 成像前在 37°C下对细胞进行短时间孵育可增强信号。孵育时间取决于特定的细胞类型。一般来说孵育 10 分钟就足够了, 根据需要进行测试和调整。

6、每隔 10 分钟, 最多 40 分钟, 使用 VILBER FUSION FX 成像系统检查体外生物发光, 确定动力学曲线并找出细胞的峰值成像时间点

### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。