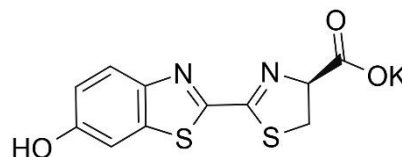


产品使用说明书

D-荧光素钾盐

货号：DLP01, DLP02, DLP03



产品参数

全名	(S)-4,5-二氢-2-(6-羟基苯并噻唑-2-基)噻唑-4-甲酸钾盐; (S)-4,5-Dihydro-2-(6-hydroxybenzothiazol-2-yl)thiazole-4-carboxylic acid potassium salt
物理性状	浅黄色固体
CAS 号	115144-35-9
分子式	C ₁₁ H ₇ N ₂ O ₃ S ₂ K
分子量	318.41
纯度	≥ 99.0%
溶解性	30mg/mL (H ₂ O), >30 mg/mL (PBS: pH 7.2-7.4)

产品描述

D-荧光素 (D-Luciferin) 是荧光素酶 (Luciferase) 的常用底物, D-荧光素钾盐为其钾盐形式, 水溶性良好, 可直接溶于水或常用缓冲液, 无需碱溶处理, 适用于体内外生物发光成像等研究。

在 ATP 和荧光素酶参与下, D-荧光素发生酶促氧化反应产生生物发光。D-荧光素过量时, 在一定范围内, 发光强度与体系中荧光素酶浓度呈正相关。将携带荧光素酶编码基因 (Luc) 的质粒转染至细胞, 再将细胞植入小鼠、大鼠等实验动物体内, 给予 D-荧光素钾后, 可利用生物发光成像技术 (BLI) 监测生物发光信号变化, 实时评估疾病进展、药物治疗效果及其他生物学过程, 同时也可依据生物发光信号的变化检测并评价细胞 ATP 水平及能量代谢状态。

产品用途

- 体外实验：用于体外生物发光检测, 定量测定体系内荧光素酶表达水平。
- 体内实验：活体生物发光成像 (BLI), 实时追踪动物体内疾病发展与药物治疗效果。
- 能量代谢检测：通过发光信号变化, 检测并评估细胞 ATP 水平与细胞能量代谢状态。

产品储存与运输

- 常温运输
- 避光保存
- 粉末状态：-20°C可保存 3 年
- 溶于溶剂后：-80°C可保存 1 年

使用方法

到货后请尽快按规定条件妥善保存。

建议根据实验需求，在使用时选用适宜溶剂（如无菌水、无菌 PBS 等）配制相应浓度的储存液，经分装后于-80℃ 条件下保存；使用时于 4℃ 解冻，解冻时可能会有固体析出，振摇后可复溶，平衡至室温后再按实验体系稀释使用，避免反复冻融。

以下为可供参考的试验方法：

A. 体外生物发光成像 (BLI) 实验

试剂

- 1) D-荧光素钾盐
- 2) D-PBS
- 3) 待测细胞（本方法以 HEK293T 细胞为例）
- 4) 质粒（本方法以 MA0509 为例，浓度 800 ng/μL）
- 5) 转染试剂 (Lipo2000)
- 6) DMEM 细胞培养基（请根据相应细胞种类更换）、胰蛋白酶、酶反应缓冲液等。

溶液配置

30 mg/mL D-荧光素钾母液：精确称取 60 mg D-荧光素钾盐固体，加 2 mL D-PBS 进行充分溶解。

工作液：使用 DMEM 基础培养基对前述 D-荧光素钾盐母液进行稀释为工作液体积，终浓度可为 300 μg/mL，实际可根据需求调整。

实验操作

- 1) 细胞培养：将 HEK293T 细胞接种于 10 cm 培养皿，加入 10 mL 细胞悬液（约 $5-8 \times 10^6$ 个细胞/皿），37℃、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养过夜，使细胞贴壁。
- 2) 细胞转染：次日，10 mL 含血清 DMEM 完全培养进行换液处理。按照 Lipo2000 说明书配置转染试剂-DNA 复合物，并加入到培养皿中，置于 37℃、5% CO₂ 的细胞培养箱中继续培养 24 小时。
- 3) 测试：胰酶消化收集细胞悬液，DMEM 基础培养基稀释后加入到 96 孔板 (n=3) 中，利用排枪向各细胞孔中迅速加入等体积前述测试工作液，立刻酶标仪检测生物发光信号（1 min 一次，最高 20 min）或 37℃ 孵育 5-10 min 后 BLI 拍照。

B. 活体成像分析

材料

D-荧光素钾盐、D-PBS 或 PBS

配置步骤

D-荧光素钾盐于 -20℃ 下密封干燥保存，实验前按需现用现配。以腹腔注射为例，称取适量样品，加入溶剂配制 30 mg/mL 的储备液，充分溶解后即可直接用于后续实验（通常无需过滤除菌）。

动力学曲线建立与采集频率：

腹腔注射法：每隔 5~10 min 采集一次图像，连续动态监测 40~60 min。

信号峰值窗口参考：

腹腔或皮下注射法：大部分动物模型底物引入后约 10~15 min 达到生物发光峰值。

成像分析：实验中应严格选择在光信号最强且稳定的“发光平台期”进行图像采集与量化分析。

实验时选择光信号达到最强稳定平台期进行成像分析。

注意：注射方式，动物类型以及体重等都会影响信号的发射，因此建议每只动物都需要建立萤光素酶动力学曲线，确定最佳信号平台期和最佳的检测时间。

注意事项

1. 为了确保操作人员的安全与健康，实验全过程请务必穿戴实验服并佩戴一次性手套。
2. 本品所附带的部分产品技术信息仅供客户参考、学术交流与科学研究之用；我司不对所提供信息的绝对权威性与完整性作担保。
3. 本品仅供科学研究使用，严禁用于临床诊断、治疗、食品及药品等任何人体相关用途，禁止存放于普通住宅。

4. 本品方法开发与性能验证过程中的动物操作均严格遵循实验动物伦理相关规范完成。使用者开展动物实验时，须遵守所属机构的实验动物伦理审查要求与动物福利管理规定。
5. 保存和操作的都要避光。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。
6. 荧光素溶解后尽量避免反复冻融，特别建议配置为储存液后分装。
7. 特别注意：本产品未经过无菌处理，如需要用于细胞培养，应先进行处理。

技术问答

可能出现的问题及解决方案：

技术问题	解决方案
产品使用的过程中用水溶解没有澄清怎么处理	可以更换使用 PBS 缓冲液溶解
信号衰减过快	可能是底物在体内代谢消耗导致； 尽量缩短成像时间，在峰值窗口内采集
溶液出现沉淀	配制浓度过高或温度过低导致； 降低浓度或 37°C 水浴助溶