

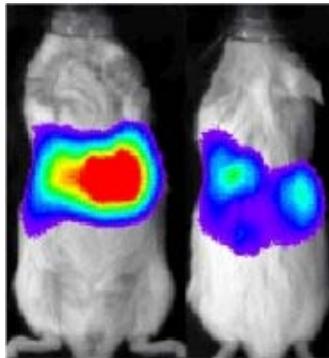
活体成像产品手册

产品&服务

标记细胞株(Luc/GFP)
细胞转染服务
D-荧光素钾
D-荧光素钠
D-荧光素
腔肠素

方法&资料

In vivo分析
In vitro分析
腹腔(I.P.)注射
发光动力学分析
FAQs(D-荧光素)
腔肠素配置方法
参考资料



Everything you need,

In one place!

细胞转染服务

细胞转染是将外源性基因导入细胞内。被转染的细胞可以表达目的基因及感兴趣的蛋白和报告基因。与传统的转染方法，例如脂质体转染方法、电穿孔法或显微注射相比，病毒介导的转染技术是目前转染效率最高的方法。病毒介导法是通过病毒侵染宿主细胞将外源基因（例如DNA或siRNA）整合到染色体中。慢病毒载体能稳定整合到G0期细胞（又称静止期细胞）、分裂期或非分裂期细胞，且没有免疫原性。慢病毒转染基因的效率，且更易于转染哺乳动物细胞。慢病毒转染的另一显著优点是能长效稳定地表达基因。这些特性决定了慢病毒能快速且方便地在被转染到永生细胞系及原代细胞系中。

乐辰生物掌握成熟的细胞标记技术，专为活体成像研究构建的慢病毒载体（Luc+GFP）具有很高的转染效率高，为活体成像研究提供快速、优质的细胞标记服务。

质量标准

1. 适合活体成像（in vivo imaging）分析的应用要求。
2. 细胞标记后与标记前相比，没有明显的形态改变，没有异常物质（比如黑色颗粒），传代时间一样。
3. 细胞发光效率（光子量）： >200 ph/s/cell（与细胞生长状态和细胞特性相关）。
4. 慢病毒载体转染，LUC2/EGFP稳定表达。

服务周期

4~6周

运输

常温或低温运输。

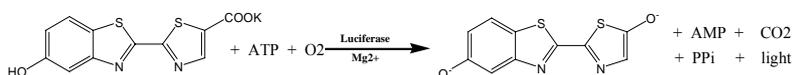
标记基因序列

标记基因为 Luc2 和 EGFP 的融合基因，
详细序列见网页（www.sinochrome.net）。

肿瘤组	细胞株	备注
结肠癌	HT29-GFP-Luc2	
胰腺癌	Panc1-GFP-Luc2	
	SW1990-GFP-Luc2	
	BxPc-3-GFP-luc2	
	AsPc-1-GFP-luc2	
肝癌	BEL7402-GFP-Luc2	
	SMMC-7721-Luc2	
	Huh7-Luc2	
肺癌	Lewis-GFP	小鼠肺癌细胞
乳腺癌	MDA-MB-231-GFP-Luc2	
	4T1-GFP-Luc2	
	4T1-GFP	
	MCF-7-Luc	
	PC-3-GFP-Luc2	
	PC-3- Luc2	
膀胱癌	BTT-GFP	
内皮细	SVEC-GFP	小鼠血管内皮细胞
胶质瘤	U87MG-GFP-Luc2	人脑胶质瘤
	U251-GFP-Luc2	
黑色素瘤	OCM-1-GFP-Luc2	人眼恶性黑色素瘤细胞
	B16-F10-Luc2	小鼠恶性黑色素瘤细胞
视网膜	RB-GFP-Luc2	人视网膜母细胞瘤细胞
	RB-GFP	人视网膜母细胞瘤细胞
	RPE-GFP	人视网膜色素上皮细胞
干细胞	h-MS-C-GFP-Luc2	
卵巢癌	ES-2-GFP-Luc2	
胃癌	MGC80-GFP-Luc2	

产品描述

D-Luciferin 作为荧光素酶的底物，存在于多种发光生物体中。在荧光素酶的催化和氧气、ATP、Ca²⁺/Mg²⁺作用下，D-Luciferin被氧化，产生蓝绿色的光(560nm)，当底物过量时，产生的光子数与荧光素酶的浓度呈正相关。编码荧光素酶的Luc基因是植物、细菌、哺乳动物细胞的常用报告基因。由于没有背景干扰，因此可以很容易地检测出低至 0.02 pg水平的荧光素酶。



分子式: C₁₁H₇N₂O₃S₂·K

MW: 318.4

CAS NO.: 115144-35-9

质量

1. 高纯度 (含量>99%)
2. 每批产品均经过发光效率检测
3. 分子生物学级产品，生物安全性高

贮存

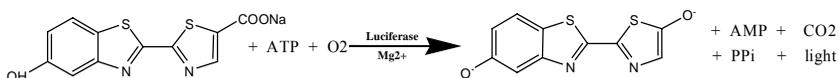
-20℃保存，常温运输

应用

1. In vitro分析
2. In vivo分析 (活体成像)
3. 高灵敏度ATP分析
4. 其它Luciferase检测分析

产品描述

D-Luciferin Na作为荧光素酶的底物，存在于多种发光生物体中。在ATP和荧光素酶的催化作用下，D-Luciferin被氧化，产生蓝绿色的光(560nm)，当底物过量时，产生的光子数与荧光素酶的浓度呈正相关。编码荧光素酶的Luc基因是植物、细菌、哺乳动物细胞的常用报告基因。由于没有背景干扰，因此可以很容易地检测出低至 0.02 pg水平的荧光素酶。



分子式: C₁₁H₇N₂O₃S₂·Na

MW: 302.3

CAS NO.: 103404-75-7

质量

7. 高纯度 (>99%)
8. 每批产品均经过发光效率检测
9. 分子生物学级产品，生物安全性高

贮存

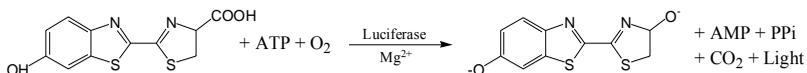
-20℃保存，常温运输

应用

9. In vitro分析
10. In vivo分析（活体成像）
11. 高灵敏度ATP分析
12. 其它Luciferase检测分析

产品描述

D-Luciferin 作为荧光素酶的底物, 存在于多种发光生物体中。在ATP和荧光素酶的催化作用下, D-Luciferin被氧化, 产生蓝绿色的光(560nm), 当底物过量时, 产生的光子数与荧光素酶的浓度呈正相关。编码荧光素酶的Luc基因是植物、细菌、哺乳动物细胞的常用报告基因。由于没有背景干扰, 因此可以很容易地检测出低至 0.02 pg水平的荧光素酶。



分子式: C₁₁H₈N₂O₃S₂

MW: 280.3

CAS NO.: 2591-17-5

质量

10. 高纯度 (>99%)
11. 每批产品均经过发光效率检测
12. 分子生物学级产品, 生物安全性高

贮存

-20℃保存, 常温运输

应用

13. In vitro分析
14. In vivo分析 (活体成像)
15. 高灵敏度ATP分析
16. 其它Luciferase检测分析

腔肠素/Coelenterazine

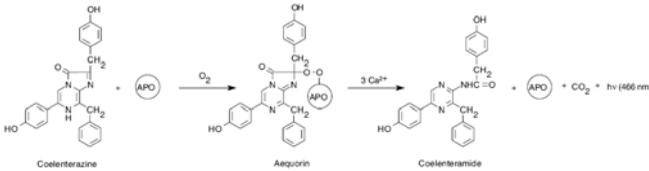
Coelenterazines 是来自 Renilla 、Aequorea 和其它海洋生物的荧光素酶，通常用作真核细胞表达分析的细胞现象的指示剂或报告蛋白。海肾荧光素酶经常被用作转录调控的报告子，而 apoaequorin 经常被用作钙指示剂。

可以应用于以下相关分析研究：

- 报告基因分析(Gene reporter assays, i.e., Luciferase)
- 活体成像分析(Whole animal assays, i.e. In vivo imaging analysis)
- 生物化学分析(Biochemical assays, i.e., ELISA and Bioluminescence Resonance Energy Transfer [BRET])
- 活细胞钙离子检测分析(Live-cell assays for the detection of calcium ions)
- 细胞/组织中活性氧分析(assays for reactive oxygen species[ROS])

Coelenterazine(native): Renilla 和 apoaequorin 的发光底物。分子式: $C_{26}H_{21}N_3O_3$ 。分子量: 423.5。

Coelenterazine-h: 其发光强度比野生型腔肠素高 10-20 倍，是检测 Ca^{2+} 浓度细微变化的有力工具。分子式: $C_{26}H_{21}N_3O_2$ 。分子量: 407.5。



质量

纯度 (>95%)，每批产品均经过发光效率检测。

GMP工厂生产，HPLC检测，高信号，低背景干扰。

贮存

-20°C 干燥保存，避光、氧气和 Ca^{2+} ，氮气保护。

甲醇溶液-70°C 可以保存2周。为保证实验效果，最好保存固体的腔肠素。

不要溶解于DMSO中。

***In vivo* Imaging/活体成像分析方法**

材料

- D-Luciferin, potassium salt, 1.0 g/瓶
- DPBS, 不含 Mg^{2+} and Ca^{2+}
- 无菌过滤器, 0.2 μm

方法

1. 用DPBS (不含 Mg^{2+} 、 Ca^{2+}) 配置D-luciferin工作液(15mg/mL)* , 0.2 μm 滤膜无菌过滤。
2. 注射量: 10 μL /g的体重, 如10 g重小鼠, 注射100 μL 储备液 (1.5 mg Luciferin)。
3. 腹腔注射 (i.p.) 10-15分钟后, 上机进行图像分析。

* : 溶解 D-luciferin 时要完全。

***In vitro* Imaging/活体成像分析方法**

材料

- D-Luciferin potassium salt, 1.0 g /瓶
- 无菌水
- 完全培养基

In vitro Imaging / 体外分析方法

1. 用无菌水配置 200×储备液 (30mg/ml) *，立即使用，或-20℃/-80℃保存。
2. 用预热好的完全培养基 1：200 稀释 D-Luciferin 储备液，配置工作液(150μg/mL)。
3. 去除培养细胞的培养基。
4. 进行图像分析前，向细胞中添加 1×的 D-Luciferin 工作液，进行图像分析**。

*：溶解D-luciferin时要完全。

**：在图像分析前，将细胞进行37℃的短时间培育可以增加信号强度。

腹腔 (I . P .) 注射

注射点

小鼠的左下腹部。

针头&注射器规格

25G针头，常用1ml注射器。

注射量

每10g小鼠注射100 μ L 15 mg/mL的D-荧光素储备液。

注:腹腔注射1ml无刺激性的溶液对小鼠是安全的。

注射

腹腔注射时右手持注射器，左手固定小鼠，使小鼠的头部向下。这样腹腔中的器官就会自然倒向胸部，防止注射器刺入时损伤大肠、小肠等器官。进针的动作要轻柔，防止刺伤腹部器官。腹腔注射时针头可以在腹部皮下穿行一小段距离（4~5mm），最好是从腹部一侧进针，穿过腹中线后在腹部的另一侧进入腹腔，注射完药物后，缓缓拔出针头。

特定模型 D-荧光素动力学分析

D-荧光素在动物体内的生物扩散 (biodistribution) 是一个比较快速的过程, 其扩散动力学具有组织特异性。研究人员可以对特定动物模型进行D-荧光素动力学分析, 以测定最佳的图像分析时间。

Luciferase 活性的动力曲线测定

1. 进行D-荧光素注射 (如: I.P.注射)。我们建议在麻醉前对动物进行D-荧光素的注射。也可以对小鼠麻醉后再进行D-荧光素注射, 但这对luciferase活性曲线有一定的影响, 峰值时间(peak luciferase expression time)略为向后推移。
2. D-荧光素注射3分钟后, 对小鼠进行麻醉处理 (气麻或注射麻醉)。
3. 将处于麻醉状态的小鼠放入到活体成像系统中进行成像。D-荧光素注射5分钟后, 拍第一张图片。
4. 每5~10分钟拍一图片, 连续拍照40分钟, 产生特定模型的D-荧光素发光动力学曲线。2% 异氟烷气体麻醉对健康的小鼠连续麻醉45分钟是安全的。
5. 根据D-荧光素的发光动力学曲线, 可以选择最佳的拍照时间。大部分的动物模型的拍照时间在10~20分钟之间。

D-荧光素使用中的常见问题

D-荧光素适合做哪些实验?

D-荧光素钾盐和 5-氟-荧光素, 作为 Luciferase 的作用底物, 常用于以下实验:

1. 报告基因分析
2. In vivo imaging (动物活体成像)
3. In vitro imaging (细胞体外分析)
4. ATP 测定
5. 其它 luciferase 及其基因相关的分析和研究工作

D-荧光素钾盐溶液的稳定性

D-荧光素钾盐易溶于水和缓冲液, 溶解度可高达 25mg/mL。一般使用浓度为 3-15 mg/mL。

溶液的 pH 值、溶液中的氧气和保存时间对其保存过程中的稳定性非常重要。当溶液的 pH<6.5 (发生水解作用) 或>7.5 (发生消旋化作用, D 型转化为 L 型) 的情况下, D-荧光素钾盐相对不稳定。如果溶液中存在少量的氧气, 将加速 D-荧光素钾的降解速度。

D-荧光素配成溶液后, 在最佳的保存条件 (-80°C, 最佳 pH, 无氧气) 下, 存在固定的降解速度: 0.2%/天, 因此配成溶液保存的 D-荧光素应尽量在 1 年内使用完。

有水存在的情况下, 主要发生消旋化作用, 即 D-荧光素转化成 L-荧光素, 有报道称 L-荧光素对荧光素酶催化的酶促反应有抑制作用。

D-荧光素、D-荧光素钠和 D-荧光素钾之间的区别

主要区别在于溶解和分散性能。D-荧光素钾盐在水和缓冲液中的溶解度高, 且溶解速度较快, 故在一般的生物学试验中常用 D-荧光素钾盐。

D-荧光素质量对 In vivo imaging 分析的影响

优质的 D-荧光素对于成功进行活体成像分析极为重要。高质量的底物可以提高检测的灵敏度; 一定要在有效期内使用相关产品。

腔肠素配置&保存方法

活体分析 / In vivo imaging assay

- 1) 配置储备液: 10ml酸化甲醇溶 (或含有200ul 3N HCl的甲醇10ml) 溶解50mg腔肠素, 终浓度5mg/ml.
- 2) 配置工作液: 20 μ l的腔肠素储备液加到130 μ l PBS中, 以此浓度, 每只小鼠可以注射100 μ g 的腔肠素。
- 3) 立即对小鼠进行尾静脉注射。

参考资料: Tannous, B.A. Gaussia luciferase reporter assay for monitoring of biological processes in culture and in vivo. Nature Protocols 4, 582 - 591 (2009)

细胞活体分析 / In vitro imaging assay

- 1) 配置储备液: 10ml酸化甲醇溶 (或含有200ul 3N HCl的甲醇10ml) 溶解4.07mg的腔肠素-h(或4.23mg 的腔肠素-n), 终浓度1mM。
- 2) 配置工作液: 60 μ l的腔肠素储备液加到40ml的D-PBS (含Ca²⁺、 Mg²⁺离子) 中, 终浓度1.5 μ M M。室温平衡工作液。
- 3) 每孔添加工作液50 μ l, 上仪器检测。

参考资料: Subrizi, A. Yliperttula, M. et al. Optimized transfection protocol for efficient in vitro non-viral polymeric gene delivery to human retinal pigment epithelial cells (ARPE-19). Nature Protocols (2009)

试剂配置说明/Reagent Preparation

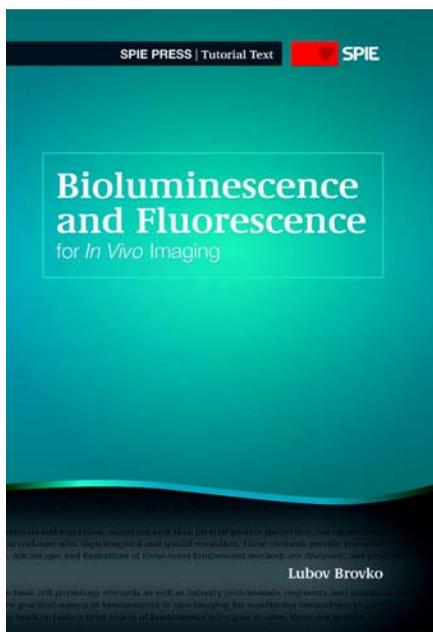
腔肠素在水中的溶解度非常低, 含有45-50mM hydroxypropyl- β -cyclodextrin的水溶液可用于消除甲醇对细胞毒性的副作用。

产品订购

货号	产品	规格	价格/元	说明
BC-219-01	D-荧光素钾	100mg		Synchem
BC-219-05	D-荧光素钾	500mg		Synchem
BC-219-10	D-荧光素钾	1g		Synchem
BC-219-11	D-荧光素钾	10 × 1g		Synchem
360241	D-荧光素钠	100mg		Regis
360201	D-荧光素钠	1g		Regis
360201	D-荧光素	100mg		Regis
360202	D-荧光素	1g		Regis
1-360201	腔肠素 Native	1mg		Regis
1-361204	腔肠素 Native	10mg		Regis
1-361211	腔肠素 H	1mg		Regis
1-361214	腔肠素 H	10mg		Regis
CTS-1	细胞标记服务	Luc2+EGFP		Cellcyto
CTS-2	标记细胞株	Luc2/EGFP		Cellcyto

推荐参考书:

Bioluminescence and Fluorescence for *in vivo* Imaging



上海乐辰生物科技有限公司

上海

地址:上海市宝山区共江路 299

号 207 室,200431

Tel: 021-60444836

Free Tel: 400-0021-908

Fax: 021-66209682