

D-荧光素钾盐及D-荧光素使用中的常见问题

1、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

2、D-荧光素应用于活体成像的基本原理

细胞中D-荧光素酶参与的化学发光反应遵守酶促反应的基本原理，在底物D-荧光素钾过量的情况下，反应产生的光子数（发光量）与细胞中的D-荧光素酶的量成正相关，从而可以推算出细胞的数量。

3、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3-15mg/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。

4、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，故在一般的生物试验中常用D-荧光素钾盐。

5、D-荧光素钾盐的保存和运输条件

保存条件：≤-20°C，避光，保持干燥。（在不打开包装的条件下，可保存两年时间）。

运输条件：高纯度的D-荧光素钾盐可在短时间内常温条件下保存，运输条件为常温。

原装（没有打开包装）荧光素的包装瓶中充有氩气，保证其稳定性，打开包装后，请严格按照保存条件保存。

D-荧光素钾盐具有易溶于水的特性，其暴露于空气中，易吸潮。在称量过程中，请考虑其易吸潮的特性，先进行温度平衡，再快速称取。