

Injectable native Coelenterazine 注射用天然腔肠素

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5919-1mg	Injectable native Coelenterazine 注射用天然腔肠素	2x500ug
NBS5919-10mg	Injectable native Coelenterazine 注射用天然腔肠素	20x500ug

【温馨提示】：见我司提供的活体成像底物-腔肠素及衍生物产品专题。

产品简介：

腔肠素 (Coelenterazine) 是在水生生物中发现的一种发光基团 (luminophore)，是许多荧光素酶的作用底物，包括海肾荧光素酶 (Renilla reniformis luciferase, Rluc)，分泌型膜锚定荧光素酶 (Gaussia luciferase, Gluc) 和蕈枝虫荧光素酶 (Obelia luciferase)，和发光蛋白包括水母发光蛋白 (Aequorin) 的构成之一。其作用原理是以腔肠素为底物的荧光素酶，在含分子氧的条件下，氧化腔肠素产生高能量的中间产物，在此过程中发射蓝色光，光波长在 450~480nm。而甲虫 (或萤火虫) 荧光素/荧光素酶 (FLuc) 系统不同，其在含分子氧的条件下，还需要 ATP 和 Mg^{2+} 的存在才能同时发光，光波长在 550-570nm。正由于生物发光信号和底物的差异，Rluc 常常与 FLuc 联合用于多重转录报告基因研究，或用作 Fluc 系统内萤火虫荧光素酶转染的内参。

腔肠素应用甚是广泛，包括：1) 活细胞或组织的钙离子检测；2) 细胞或组织的超氧化物和过氧亚硝基阴离子 (活性氧，ROS) 化学发光检测；3) 基因报告基因检测；4) 动物活体检测；5) ELISA 和生物发光共振能量转移 (BRET) 用于蛋白相互作用研究；6) 药物高通量筛选 (HTS)。

天然腔肠素 (Coelenterazine Native) 是自然界中存在最丰富的一种腔肠素，也是目前应用最普遍的一种标准底物。不仅是天然水母发光蛋白复合物的发光基团，也是海肾荧光素酶 (Rluc) 和分泌型膜锚定荧光素酶 (Gluc) 等的作用底物。还可用于生物共振能量转移 BRET，细胞或组织内的超氧阴离子和过氧化亚硝基阴离子水平 (ROS) 的化学发光检测。

本品为专供体内成像研究的注射用天然腔肠素 (Injectable native Coelenterazine)，不仅含有超纯的天然腔肠素 (> 99%)，还提供特别设计的 Inject-Diluent 溶剂，能够最大程度的溶解腔肠素，从而最小化体内注射体积。另外，与传统乙醇溶解的腔肠素相比，用 Inject-Diluent 溶解的腔肠素能得到更好的荧光信号。

保存条件:

-20℃干燥避光保存，且保存于惰性气体内。至少一年有效。

产品组成:

组分	名称	规格	
		NBS5919-1mg	NBS5919-10mg
NBS5919-A	Native Coelenterazine	2×500µg	20×500µg
NBS5919-B	Inject-Diluent	1×500µl	10×500µl

产品使用:

1. 使用装有 23 gauge 或更小针头的 0.5-1.0ml 注射器，吸取 150µl 温热 (35-50℃) 的 Inject-Diluent。
2. 将 150µl Inject-Diluent 打入 Native Coelenterazine 瓶内，使用针头和注射器上下吸打或低速涡旋，直至看到完全透明溶液，此时得到腔肠素溶液浓度为 3.33mg/ml。如果溶液没有完全透明，用水浴锅或加热板在 60-80℃加热几分钟，检查完全透明。
3. 按下表 1，用胰岛素注射器吸取 15-75µl 充分溶解的腔肠素溶液 (3.33mg/ml)，通过尾静脉注射到动物体内。检查，排气，冲洗针头。使用胰岛素注射器的优势在于很低的液体滞留体积 (< 2µl)。缓慢注射。

建议按照表 1 单只小鼠 (25g 体重) 的腔肠素溶液 (3.33mg/ml) 注射剂量表

需要的底物质量	腔肠素溶液注射体积
50µg	15µl
100µg	30µl
200µg	60µl
250µg	75µl

【注意：分泌型膜锚定荧光素酶 (Gluc) 比其他荧光素酶强许多倍，具有更高的 K_m 值，因此需要更多的腔肠素底物来达到理想的信号值。天然腔肠素是唯一的底物能用于分泌型膜锚定荧光素酶。建议每只 25g 体重的小鼠，使用 100-200µg 腔肠素。往每只 25g 小鼠内注射的液体量不要超过 70-80µl。若需要更高底物，可提高腔肠素溶液的浓度。】

附录 1 天然腔肠素及其衍生物的光谱特性：

产品名称	产品编号	Em (nm)	RLC[1]	Relative Intensity[2]	Half-rise time (ms) [3]
<u>Coelenterazine native</u>	<u>NBS5918</u>	466	1.00	1	6-30
<u>Coelenterazine h</u>	<u>NBS5920</u>	466	0.75	16	6-30
<u>Coelenterazine 400 a</u>	<u>NBS5922</u>	400	/	/	/
<u>Coelenterazine e</u>	<u>NBS5923</u>	405&465	0.5	4	0.15-0.3
<u>Coelenterazine f</u>	<u>NBS5924</u>	472	0.80	20	6-30
<u>Coelenterazine cp</u>	<u>NBS5925</u>	442	0.63	28	2-5
<u>Coelenterazine hcp</u>	<u>NBS5926</u>	445	0.65	500	2-5
<u>Coelenterazine n</u>	<u>NBS5928</u>	468	0.25	0.15	6-30

[1] RLC = relative luminescence capacity: Total time-integrated emission of aequorin in saturating Ca^{2+} relative to native aequorin = 1.0.

[2] Ratio of the luminescence of aequorin reconstituted with coelenterazine analog relative to native aequorin at 100 nM Ca^{2+} .

[3] Half-Rise Time: The half-rise time is the time for the luminescence signal to reach 50% of the maximum after addition of 1 mM Ca^{2+} to a standard of aequorin reconstituted with the coelenterazine analog of interest.

附录 2 天然腔肠素及其衍生物的应用差异：

产品编号	产品名称	应用特征
<u>NBS5918</u>	<u>Coelenterazine native</u>	应用非常广泛的标准底物。腔肠素是天然水母发光蛋白复合物的发光基团，也是海肾荧光素酶 (Rluc) 的底物。底物的快速再生 (fast regeneration) 比较重要的实验推荐使用天然腔肠素。 1) 生物发光检测钙离子的灵敏度非常高，检测范围从 0.1 μM 到 >100 μM ；2) 使用腔肠素监测报告基因表达是其主要应用；3) 其他应用包括生物共振能量转移 BRET，化学发光检测细胞或组织内的超氧阴离子和过氧化亚硝基阴离子水平 (ROS)；
<u>NBS5920</u>	<u>Coelenterazine h</u>	1) 腔肠素 h 形成的水母发光蛋白复合物比天然腔肠素复合物的光强度高 10 倍以上；2) 比天然腔肠素对钙离子敏感度更高；3) 也适用报告基因分析。
<u>NBS5922</u>	<u>Coelenterazine 400 a</u>	也称为 DeepBlue C，是一种腔肠素衍生物，用作海肾荧光素酶 Rluc 的底物，发射峰约 400nm。含 GFP 受体的 BRET 研究是 Rluc 的首选底物，因其对 GFP 受体的发射波干扰非常小。不可用作 Gluc 底物。
<u>NBS5923</u>	<u>Coelenterazine</u>	体外水母发光蛋白再生中腔肠素 e 的速度最高，具有双发射

	<u>e</u>	峰，分别为 405nm 和 465nm，使其能在 pCa 5-7 范围内通过双发射峰荧光强度比率的方式测定 Ca^{2+} 浓度，提高检测准确度。但由于渗透性差，不适合胞内应用。在溶液中稳定性差。
<u>NBS5924</u>	<u>Coelenterazine f</u>	腔肠素 f 形成的水母发光蛋白复合物的光强度是天然腔肠素复合物的 20 倍，最大发射波长约长 8nm。具有最好的细胞渗透性。当需要具极高钙离子 Ca^{2+} 灵敏度的水母发光蛋白复合物，建议用腔肠素 f。
<u>NBS5925</u>	<u>Coelenterazine cp</u>	Coelenterazine cp 产生水母发光蛋白复合物的光强度是天然腔肠素复合物的 15 倍，且具有更快的 Ca^{2+} 反应性。
<u>NBS5926</u>	<u>Coelenterazine hcp</u>	其生物发光强度最高（腔肠素 hcp 形成水母发光蛋白复合物的荧光强度比天然腔肠素复合物高 190 倍），对 Ca^{2+} 反应速度快。
<u>NBS5927</u>	<u>Coelenterazine fcp</u>	腔肠素 fcp 形成的水母发光蛋白复合物的光强度是天然腔肠素复合物的 135 倍。
<u>NBS5928</u>	<u>Coelenterazine n</u>	所有的腔肠素衍生物中荧光强度最弱，对 Ca^{2+} 反应时间明显慢于天然腔肠素。一种非常有用的低灵敏腔肠素。
<u>NBS5929</u>	<u>Coelenterazine i</u>	体外腔肠素 i 水母发光蛋白复合物的荧光强度仅为天然腔肠素复合物的 3%，在所有腔肠素衍生物种对钙离子的反应时间最慢。
<u>NBS5930</u>	<u>Coelenterazine ip</u>	体外腔肠素 ip 水母发光蛋白复合物的荧光强度几乎比天然腔肠素复合物高 50 倍，但对钙离子的反应时间比天然腔肠素慢。
<u>NBS5932</u>	<u>Methyl Coelenterazine</u>	非常优越的抗氧化剂，靶向细胞内来源于单态氧和超氧化物阴离子产生的活性氧物质（ROS）。

注意事项：

1. 本品特别开发适用于体内实验。若仅做体外实验，可使用我司提供的天然腔肠素（Coelenterazine Native）（货号：NBS5918）或腔肠素 h（Coelenterazine h）（货号：NBS5920）。
2. 商业化腔肠素的种类繁多，有天然腔肠素，以及各种腔肠素衍生物（比如，腔肠素 h，腔肠素 400a，腔肠素 e，腔肠素 f，腔肠素 hcp）。它们对钙离子的亲和力，光谱特性，以及应用倾向上会有差异，详见附录 1—天然腔肠素及其衍生物的光谱特性，附录 2—天然腔肠素及其衍生物的应用差异选择适当的产品。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！