

## Coelenterazine h 腔肠素 h

| 产品编号          | 产品名称                   | 包装规格     |
|---------------|------------------------|----------|
| NBS5920-500ug | Coelenterazine h 腔肠素 h | 500ug    |
| NBS5920-1mg   | Coelenterazine h 腔肠素 h | 2x500ug  |
| NBS5920-5mg   | Coelenterazine h 腔肠素 h | 10x500ug |

**【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)。

腔肠素 h (Coelenterazine h, CTZ-h) 是天然腔肠素 (Coelenterazine native, CTZ-native) 的脱羟基衍生物。CTZ-h 形成的水母发光蛋白复合物比 CTZ-native 形成的水母发光蛋白复合物的荧光强度高 10 倍以上 (最大发射波长~466nm, 半衰期为 0.6-1.2sec)。CTZ-h 形成的水母发光蛋白复合物比天然发光复合物对钙离子灵敏度更高, 是一种检测钙离子浓度微小变化的实用探针。另外, CTZ-h 是海肾荧光素酶 (Renilla luciferase, Rluc) 的底物, 适用于体内外报告基因分析。

**产品特性:**

- 1) CAS NO: 50909-86-9
- 2) 化学名: 2,8-dibenzyl-6-(4-hydroxyphenyl)imidazo[1,2-a]pyrazin-3(7H)-one; Imidazo[1,2-a]pyrazin-3(7H)-one, 6-(4-hydroxyphenol)-2,8-bis(phenylmethyl);
- 3) 同义名: h-Coelenterazine; h-CTZ; 2-Deoxycoelenterazine 2-脱氧腔肠素; 2-(4-Dehydroxy) coelenterazine; Luciferin (Renilla) 海肾荧光素;
- 4) 分子式: C<sub>26</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>
- 5) 分子量: 407.5 g/mol
- 6) 纯度: >98%
- 7) 外观: 黄色固体
- 8) 溶解性: 溶于甲醇或乙醇, 不要溶于 DMSO

**保存条件:**

-20°C干燥避光保存, 且保存于惰性气体内。至少一年有效。

**产品使用:****一、腔肠素工作液制备****【有关腔肠素溶解的注意事项】:**

- 1) 腔肠素溶于甲醇或乙醇, 不可溶于 DMSO。腔肠素的水溶性相对较低, 一般情况需先将腔肠素溶于酸化的醇类溶剂配成相对高浓度的母液, 然后再用水溶性缓冲液稀释到需要的工作浓度, 现配现用。
- 2) 腔肠素在溶液中的稳定性比较低, 最好于正式实验前才配制溶液 (包括高浓度母液)。但若实际要求, 必须保存母液, 目前来说最稳定的溶剂是丙二醇, 往内加入少量 L-抗坏血酸, β-巯基乙醇, DTT, DTE, 或少量 HCl 能维持其还原态。不过, 还原剂可能会减低氧化腔肠素 (氧化为 Coelenteramide) 的动力学速率。也有可能破坏荧光素酶活性。而冻存在醇类溶剂中可能引起腔肠素沉淀, 实际取决于溶液浓度。当然, 可通过加热 50-60°C, 使得沉淀重新溶解。必须确保无可见沉淀, 或在实验前 (特别是活体动物实验) 离心去沉淀。

**1.1 腔肠素母液制备**

将低温保存的腔肠素粉末置于室温回温至少 20min, 低速离心后。往 500μg 腔肠素 h 内加入 102μl 酸化的醇溶液 (100%甲醇或 100%乙醇中含有 20μl/ml 3N 或 6N HCl), 配制成 12mM (~5mg/ml) 腔肠素母液。也可根据下游应用配制成适宜浓度的腔肠素母液 (1~5mg/ml)。≤-20°C (最好-80°C) 分装避光保存, 可能会有少量活性的丧失, 约保存

1~3 周。若存放在惰性气体内可相对延长保存周期。

## 1.2 腔肠素工作液制备

直接用去气蒸馏水 (degassed distilled water), PBS 或者其他类型生理缓冲液 (pH 6.6-7.2) 稀释, 选择的稀释缓冲液需考虑到与酶系统配合。工作液需现配现用。比如, 可直接用不含  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  的 PBS 将 12 mM 的储存液稀释到 2mM (~1 mg/ml) 的工作液, +4°C 避光短暂存放。最佳反应液浓度请根据下游应用来调整。

### 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  $\text{Ca}^{2+}$  relative to native aequorin = 1.0.

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

[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  $\text{Ca}^{2+}$  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。<br>1) 生物发光检测钙离子的灵敏度非常高, 检测范围从 0.1 $\mu\text{M}$ 到 >100 $\mu\text{M}$ ; 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 e</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 <sup>2+</sup> 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 <sup>2+</sup> 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 <sup>2+</sup> 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 <sup>2+</sup> 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 <sup>2+</sup> 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. 腔肠素 h (Coelenterazine h, CTZ-h) 最好以完全冻干粉的状态保存在惰性气体内, 密封后置于-20°C或-70°C长期避光保存。管内即使有微量空气, 也会随着时间慢慢氧化腔肠素使其活性丧失。由此, 导致不同组间的定量结果可能显得不可靠, 数据可比性不高。
2. 腔肠素 h (Coelenterazine h, CTZ-h) 不建议以储存液的形式保存, 最好于实验前配制新鲜的溶液。不建议将配好的腔肠素 h 溶液储存在-20°C或-70°C, 因其具有一个高能

量的二氧杂环丁酮环形结构，即使在低温条件下都会自发降解。若是必须配成液体储存液，请按照操作步骤一、腔肠素工作液制备执行。

3. 体内动物实验，推荐使用我司特别开发和优化的注射用腔肠素 h (Injectable h-Coelenterazine) (货号: NBS5921) 或注射用天然腔肠素 (Injectable native Coelenterazine) (货号: NBS5919)。
4. 发光蛋白与荧光素酶是完全不同的,比如腔肠素 h(CTZ-h)适合用作海肾荧光素酶(Rluc)的底物,但不适合用作分泌型膜锚定荧光素酶(Gluc)的底物。天然腔肠素(CTZ-native)是唯一适合分泌型膜锚定荧光素酶的一种报告基因底物。
5. 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。
6. 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!