

FITC 标记鬼笔环肽

产品编号：MB5937

包装规格：300T

基本信息：

分子量	1177.3
最大激发/发射波长 (Ex/Em)	Ex495~496nm ; Em 513~516nm
产品外观	黄色粉末 (冻干粉)
储存条件	-20℃, 避光防潮密闭干燥
溶解性(25℃)	溶于 DMSO、DMF、甲醇或者乙腈水溶液 (20%)
多肽序列	FITC-bicyclic(Ala-DThr-Cys-cis-4-hydroxy-Pro-Ala-2-mercapto-T rp-4-hydroxy-5-amino-L eu)(S-3 to 6)

简介：

鬼笔环肽 (Phalloidin) 是一种来源于毒蕈类鬼笔鹅膏 (*Amanita phalloides*) 的环状七肽毒素, 以高亲和力 ($K_d=20nM$) 选择性结合于丝状肌动蛋白 **F-actin**, 而不会与单体肌动蛋白 **G-actin** 结合。鬼笔环肽衍生物也以相近的亲合力结合于大小纤维, 无论是动植物来源的肌肉细胞或非肌肉细胞, 按照每一个肌动蛋白亚基约与一个鬼笔环肽分子的计量比结合。且非特异性结合几乎可忽略, 染色区域和非染色区域辨识度非常明显。因此, 鬼笔环肽衍生物特别适合替代肌动蛋白 (**Actin**) 抗体进行相关研究。鬼笔环肽的结合阻止丝状肌动蛋白 (微丝) 的解离, 稳定微丝结构, 从而破坏微丝的聚合-去聚合的动态平衡。此特性使得肌动蛋白聚合发生的临界浓度 (CC) 降至 $<1\mu g/mL$, 因此, 可用作一种聚合促进剂。此外, 鬼笔环肽还可抑制 **F-actin** 的 ATP 水解活性。

用途：

鬼笔环肽及其衍生物在纳摩尔浓度即可对 **F-actin** 染色, 是非常实用和方便的探针, 通常用于组织切片或细胞培养物中 **F-actin** 的特异性荧光染色。另外, 鬼笔环肽及其衍生物很小, 直径约 1.2~1.5nm, 分子量 $<2000Da$, 经标记后的 **F-actin** 仍维持许多标记前的功能。比如, 标记的甘油抽提肌纤维仍能收缩; 标记的肌动蛋白丝仍能在固相肌球蛋白基质中移动。

本品为 FITC 标记的鬼笔环肽, 染色反应特异性强, 对比性高, 具有比 **Actin** 抗体更好的染色效果, 适合用作 **F-actin** 的定性和定量检测。另外, 经本品结合后的 **F-actin** 仍能维持 **actin** 自身具有的许多生物学特性, 且本品的结合没有物种差异性, 适用性广泛。

别名: FITC-Phalloidin

运输条件: 湿冰运输 (按季节)

使用方法: (仅供参考)

1、染色液的配制

1) 母液的配制: 使用前将本品恢复至室温并简短离心, 加入 30uL DMSO 使其充分溶解, 混匀即可获得 1000 × FITC 标记鬼笔环肽母液。根据实验情况, 对其分装并于 -20℃ 避光干燥保存。

2) 工作液的配制: 吸取 1μL FITC 标记鬼笔环肽母液至 1mL PBS (含 1%BSA) 缓冲液中即可得到 1×工作液。

【注】: 不同的细胞染色情况不同, 相应 FITC 鬼笔环肽用量也需根据不同情况而定。

2. 染色步骤

1) 细胞爬片生长 $>24h$, 使其密度达到 50~60% 汇合度。

2) 吸掉培养液, 37℃ 预热的 1×PBS (pH 7.4) 清洗细胞 2 次。

3) 使用溶于 PBS 的 4% 甲醛溶液进行细胞固定, 室温固定 10~30min。

注意: 避免固定剂中含有甲醇成分, 因为甲醇在固定过程中可能破坏肌动蛋白。



- 4) 室温条件下, 用 PBS 清洗细胞 2~3 次, 每次 10min。
 - 5) 室温条件下, 用丙酮 (-20℃ 预冷) 脱水或者用 0.5% Triton X-100 溶液透化处理 5min。
 - 6) 室温条件下, 用 PBS 清洗细胞 2~3 次, 每次 10min。
 - 7) 取 100 μ L/孔 (96 孔板) 配制好的 FITC 标记鬼笔环肽工作液, 覆盖住盖玻片上的细胞, 室温避光孵育 30min (通常情况下, 4℃~37℃ 孵育皆可)。
- 注意: 为了降低背景, 可于 FITC 标记的鬼笔环肽工作液内加入 1% BSA; 另外, 孵育过程中为了避免溶液挥发, 可将盖玻片转移到一个密封的容器内。
- 8) 用 PBS 清洗盖玻片 3 次, 每次 5min。
 - 9) 使用 100 μ L/孔 (96 孔板) 即用型 DAPI 溶液 (浓度: 100nM) 对细胞核进行复染, 约 30s。
 - 10) 用 PBS 清洗盖玻片, 然后倒置在已经滴有封片剂的载玻片上。使用纸巾轻轻擦掉多余封片剂, 然后用指甲油永久封片。此法制备的标本玻片可置于 4℃ 避光保存, 通常 6 个月内可继续做 F-actin 染色分析。
 - 11) 荧光显微镜或者共聚焦显微镜下进行荧光观察, 选择 FITC 激发/发射滤片 (Ex/Em=496/516nm) 和 DAPI 激发/发射滤片 (Ex/Em=364/454nm)。

需要自备材料:

1、**试剂:** 甲醇、1 \times PBS 缓冲液, pH 7.4, 细胞培养级别、固定液 4%多聚甲醛 (溶于 PBS 缓冲液)、丙酮或透化液 0.5% Triton X-100 (溶于 PBS 缓冲液)、DAPI、封片剂、BSA (标准级别)、盖玻片周围密封液 (如透明指甲油)

2、**仪器及耗材:** 载玻片和盖玻片、组装有 TRITC 激发/发射滤片, 以及 DAPI 激发/发射滤片的荧光显微镜或共聚焦显微镜。

注意事项:

1. 荧光标记鬼笔环肽的一个单位(T)的定义: 按照推荐工作液浓度 200nM, 每次用量为 100 μ L 染色工作液时, 可检测的次数 300 次; 按照工作液浓度 100nM, 每次用量为 200 μ L 染色工作液时, 可检测的次数也是 300 次。
2. 鬼笔环肽具有毒性, 需小心操作。
3. 本产品为冻干粉形式, 微量不易观察。使用前瞬时离心, 加溶剂溶解后使用, 溶解后接近无色。
4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 部分产品我司仅提供部分信息, 我司不保证所提供信息的权威性, 以上数据仅供参考交流研究之用。

美仑相关产品推荐:

MB5938	Phalloidin	1mg	
MB5936	罗丹明标记鬼笔环肽	300T/瓶	Ex:545/ Em:570
MB5939	MFluor 647 标记鬼笔环肽 (远红)	300T/瓶	Ex:648/ Em:664
MB5940	MFluor 488 标记鬼笔环肽 (绿色)	300T/瓶	Ex:491/ Em:512
MB5941	MFluor 555 标记鬼笔环肽 (橙红)	300T/瓶	Ex:555/ Em:565
MB5992	MFluor 594 标记鬼笔环肽 (红)	300T/瓶	Ex:593/ Em:614

S240901

