

MFluor 647 标记鬼笔环肽（远红）

产品编号：MB5939

包装规格：300T

基本信息：

分子量	~2200
最大激发/发射波长 (Ex/Em)	Ex650nm ; Em 665nm
产品外观	蓝色粉末（冻干粉）
储存条件	-20℃，避光防潮密闭干燥
溶解性(25℃)	溶于 DMSO
多肽序列	MFluor647-bicyclic(Ala-DThr-Cys-cis-4-hydroxy-Pro-Ala-2-mercapto-Trp-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 $1.2\sim 1.5nm$ ，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 MFluor 647 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：MFluor 647-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 $30\mu L$ DMSO 使其充分溶解，混匀即可获得 $1000\times$ MFluor 647 标记鬼笔环肽母液。根据实验情况，对其分装并于 $-20^\circ C$ 避光干燥保存。

2) 工作液的配制：吸取 $1\mu L$ MFluor 647 标记鬼笔环肽母液至 $1mL$ PBS（含 1% BSA）缓冲液中即可得到 $1\times$ 工作液。

【注】：不同的细胞染色情况不同，相应 MFluor 647 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 $50\sim 60\%$ 汇合度。

2) 吸掉培养液， $37^\circ C$ 预热的 $1\times$ 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 $10\sim 30min$ 。



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 100μL/孔（96 孔板）配制好的 MFluor 647 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 MFluor 647 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 μL/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 MFluor 647 激发/发射滤片（Ex/Em=650/665nm）和 DAPI 激发/发射滤片（Ex/Em=364/454nm）。

需要自备材料：

- 1、**试剂：** 甲醇、1×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 100μL 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 200μL 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。

美仑相关成品推荐：

MB5938	Phalloidin	1mg	
MB5936	罗丹明标记鬼笔环肽	300T/瓶	Ex:545/ Em:570
MB5937	FITC 标记鬼笔环肽	300T/瓶	Ex:496/ Em:516
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

