

TRITC-Phalloidin 罗丹明标记鬼笔环肽（橙红）

Cat NO：IMFP-B005

产品描述

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（ $K_d=20\text{nM}$ ）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，通常用来标记组织切片，细胞培养物或无细胞体系中的 F-actin，从而对 F-actin 进行定性和定量分析。另外，鬼笔环肽衍生物也以相近的亲和力结合于大小纤维，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。另外鬼笔环肽衍生物很小，直径约 12-15Å，分子量 < 2000 Daltons，未标记肌动蛋白（Actin）的许多生理特性都得以维持，比如，同肌动蛋白结合蛋白如肌球蛋白，原肌球蛋白，DNase I 等仍能发生反应；鬼笔环肽标记的纤维丝仍可穿透固相肌球蛋白基质；以及甘油抽提的肌纤维标记后仍可收缩等。

产品信息

表 1.产品信息

产品名称	产品规格	储存条件	保质期
TRITC-Phalloidin 罗丹明标记鬼笔环肽（橙红）	20T/50 T/100 T	-20℃	12 个月

产品优势

本品为 TRITC（四甲基异硫氰酸罗丹明）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。

使用说明

1、工作液准备：对于 TRITC 标记鬼笔环肽。本品以溶于甲醇的 20 μ M 储存液形式提供，建议收到产品后，根据单次使用量，对母液进行小量分装，-20 $^{\circ}$ C 避光冻存，一年稳定。

开始实验前，使用 1 \times PBS 缓冲液稀释储存液到需要的工作浓度。推荐工作浓度为：80~200nM。工作液现配现用。按照 100nM 浓度来计算，300T 可进行 300 次细胞染色。

2、染色步骤

(1) 细胞爬片生长 24h，使其密度达到 50%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 10min。

【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 (\leq -20 $^{\circ}$ C) 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 200 μ l 配制好的 TRITC 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 $^{\circ}$ C~37 $^{\circ}$ C 孵育皆可)。注意：为了降低背景，可于 TRITC 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 200 μ l DAPI 溶液 (浓度：100 nM) 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一滴 Fluoromount-GTM 水溶性封片剂的载玻片上。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 $^{\circ}$ C 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 TRITC 激发/发射滤片 (Ex/Em=545/570nm) 和 DAPI 激发/发射滤片 (Ex/Em=364/454nm)。

注意事项

1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 3、荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
- 4、鬼笔环肽具有毒性，需小心操作（对人的半数致死剂量LD50 约 2 mg/kg）。