

iFluor™ 633-Phalloidin

iFluor™ 633 标记鬼笔环肽（远红）

Cat NO：IMFP-B003

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  $12\text{-}15\text{\AA}$ ，分子量  $<2000\text{ Daltons}$ ，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。

鬼笔环肽（Phalloidin）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  $<1\mu\text{g/mL}$ ，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。

产品信息

表 1.组成信息

产品名称	产品规格	储存条件	保质期
iFluor™ 633-Phalloidin	20T/50T/100T	-25~15℃	12 个月
iFluor™ 633 标记鬼笔环肽（远红）			

产品优势

本品为iFluor™633 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。iFluor™633 鬼笔环肽染色与用于细胞分析的其他荧光染色完全兼容，包括荧光蛋白、Qdot®纳米晶体和其他 iFluor™ 偶联物（包含 iFluor™ 偶联二抗）。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

### 需要自备材料

- ①1×PBS 缓冲液,pH 7.4,细胞培养级别
- ②固定液 4%多聚甲醛（不含甲醇）（溶于 PBS 缓冲液）
- ③透化液 Triton X-100（溶于 PBS 缓冲液）
- ④BSA，标准级别
- ⑤DAPI 染液（即用型）

### 1×工作液准备

吸取 1μL iFluor™633 标记鬼笔环肽（溶于DMSO）到 1mL 含有 1% BSA 的 PBS 缓冲液中即可得到 1×工作液。

注：①使用前需将 DMSO iFluor™633鬼笔环肽储存液分装并于-20℃避光干燥保存。

②不同的细胞染色情况不同，相应iFluor™633鬼笔环肽使用量也需根据不同情况而定。

### 染色步骤

- ①细胞培养过夜或更长，使其密度达到 50 - 60%汇合度。
- ②吸掉培养液，37℃预热的 1×PBS（pH7.4）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 10-30 min。

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（可选）：室温条件下，用溶于 PBS 的 0.1% Triton X-100 溶液透化处理 3-5 min，从而增加其通透性。

- ⑥室温条件下，用 PBS 清洗细胞2-3 次，每次 10 min。

⑦取足够量新鲜配好的iFluor™ 633 标记鬼笔环肽工作液以覆盖住细胞，如：100 μL/孔（96 孔板），室温避光染色 20-90 min。

⑧用PBS 清洗细胞 3 次，每次 5 min。

⑨（可选）：加入足量的即用型 DAPI 溶液对细胞核进行复染，如：100 μL/孔（96 孔板），室温 3-5 min。用 PBS 清洗细胞 2 次，每次 5 min。

⑩于荧光显微镜或者共聚焦显微镜下进行荧光观察，选择 iFluor™ 633 激发/发射滤片（Ex/Em=640/654 nm）或 DAPI 激发/发射滤片（Ex/Em=364/454 nm）。

### 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）。