

TRITC Phalloidin标记鬼笔环肽

包装规格

产品货号：ZT10006-300T

规格：300T

储存条件

-20°C 避光保存，一年有效

产品简介：

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 (Kd = 20 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。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。另外，鬼笔环肽 (Phalloidin) 的结合可以阻止丝状肌动蛋白 (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 µg/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。

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 < 2000 Da，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 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，适合作为 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。 本产品是冻干粉形式。

试剂盒组份：

| Cat No | Product Name | Size | Storage |
|---------------------|-------------------------|-------------------------------|----------------|
| ZT10006-300T | TRITC Phalloidin 标记鬼笔环肽 | 300T | 20°C 避光保存，一年有效 |
| CAS#915013-10-4 | | MW : 1231.4 | |
| 最大激发/发射波长 (Ex/Em) | | Ex540 ~ 546nm ; Em565 ~ 575nm | |
| 外观 (Appearance) | | 红色粉末 (冻干粉) | |
| 溶解性 (Solubility) | | 溶于 DMSO、DMF、甲醇或者乙腈水溶液 (2 | |

多肽序列 (Sequence) TRITC-bicyclic(Ala-DThr-Cys-cis-4-hydroxy-Pro-Ala-2-mercapto-Trp-4-hydroxy-5-amino-L eu)(S-3 to 6)

操作步骤

1. 染色液的配置

1) 母液的配置：使用前将本品回温至室温并简短离心，加入 30 μ L DMSO 使其充分溶解，混匀即可获得 1000 \times TRITC 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) 工作液的配置：吸取 1 μ L 以上 TRITC 标记鬼笔环肽母液至 1 mL 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 TRITC 鬼笔环肽用量也需根据不同情况而定。推荐工作浓度为：80~200 nM。工作液现配现用。

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 $^{\circ}$ 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 10~30min。

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 (\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 100 μ L/孔 (96 孔板) 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 100 μ L/孔 (96 孔板) 即用型 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=545/570 nm) 和 DAPI 激发/发射滤片 (Ex/Em=364/454 nm)

需要自备材料

1) 甲醇

2) 1 \times PBS 缓冲液, pH 7.4, 细胞培养级别

3) 固定液 4% 多聚甲醛 (溶于 PBS 缓冲液)

4) 丙酮或透化液 0.5% Triton X-100 (溶于 PBS 缓冲液)

5) Fluoromount-GTM 水溶性封片剂 (不含 DAPI) ， DAPI

6) DAPI Fluoromount-GTM 水溶性封片剂 (含 DAPI)

7) BSA, 标准级别

8) 载玻片和盖玻片

9) 盖玻片周围密封液 (如透明指甲油)

10) 组装有 FITC 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 200 nM，每次用量为 100 μ L 染色工作液时，可以检测的次数 300 次；按照工作液浓度 100 nM，每次用量为 200 μ L 染色工作液时，可以检测的次数也是 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. 产品仅限于专业人员用于生命科学研究，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅。
5. 产品必须由合格专业技术人员操作同时佩戴口罩/手套/实验服并遵守生物实验室安全操作规程！

仅供科学研究使用，禁止用于它用