

## FITC Phalloidin FITC 标记鬼笔环肽

| 产品编号         | 产品名称                        | 包装规格 |
|--------------|-----------------------------|------|
| NBS5830-300T | FITC Phalloidin FITC 标记鬼笔环肽 | 300T |

**【温馨提示】：**见我司整理的鬼笔环肽及偶联物 (Phalloidin and Phalloidin Conjugates) 产品专题。

### 产品简介：

鬼笔环肽 (Phalloidin), 又称鬼笔鹅膏素, 最初是从毒蘑菇鬼笔鹅膏 (*Amanita phalloides*) 中分离到的一种七肽毒素, 以极高的亲和力和特异性结合肌动蛋白丝 F-actin (聚合形式的肌动蛋白), 不会结合单体肌动蛋白 (G-actin)。不像肌动蛋白抗体, 同时识别单体和聚合形式的肌动蛋白。

鬼笔环肽对大小纤维的亲和力相近, 在许多不同的动植物物种的肌肉和非肌肉细胞中, 基本都按照一个肌动蛋白亚基与一个鬼笔环肽分子的化学计量比结合。不像肌动蛋白抗体, 对不同物种或来源的肌动蛋白亲和力会发生明显变化。鬼笔环肽的非特异性结合几乎可忽略, 染色和未染色区域的差异极其明显。

鬼笔环肽使得肌动蛋白聚合/解离的临界浓度降至  $1\mu\text{g/ml}$ , 可用作一种聚合增强剂。另外, 产生的复合物高度稳定 (解离常数约  $3\times 10^{-8}\text{M}$ ), 能够抑制细胞松弛素、碘化钾和温度上升引起的去聚合和去组装活性。

鬼笔环肽及其衍生物在纳摩尔浓度即可对 F-actin 染色, 且水溶性良好, 是非常实用和方便的探针, 对组织切片、细胞培养物或无细胞体系内的 F-actin 进行定性和定量研究。另外, 鬼笔环肽及其衍生物很小, 直径约  $12-15\text{ \AA}$ , 分子量  $<2000\text{ Da}$ , 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 FITC 荧光标记的鬼笔环肽 (FITC-Phalloidin), 以溶于 DMSO 的储存液形式提供, 按照  $100\mu\text{l/孔}$  (96 孔板), 总共可做 300 次。

### 产品应用

- 1) 对固定的组织切片和组织细胞培养物进行肌动蛋白丝 (F-actin) 的荧光染色;
- 2) 体外制备稳定的荧光肌动蛋白丝 (F-actin);

## 保存条件:

-20℃避光干燥保存, 2 年有效。

## 操作流程 (免疫荧光染色)

有几种方法都能用来染色组织细胞培养物内的肌动蛋白丝 (F-actin) 染色, 其中, 固定步骤在获得可信且具代表性的细胞 F-actin 分布情况中至关重要。固定步骤基于实验自身需求来选择。多聚甲醛或戊二醛都能得到优秀的 F-actin 染色和良好的板状伪足维持保存。

### 一、实验材料准备

1.1 FITC Phalloidin (Cat# NBS5830)

1.2 1.2 1 × PBS 缓冲液 (细胞培养级别) (Cat# NBS3021)

1.3 固定液 (溶于 PBS 的 4%多聚甲醛, pH 7.0) (Cat# NBS0135)

1.4 破膜液 (溶于 PBS 的 0.5% Triton X-100)

1.5 抗荧光淬灭剂 (Fluoromount-G 抗荧光淬灭封片剂, Cat# NBS0032 或 DAPI Fluoromount-G 抗荧光淬灭封片剂, Cat# NBS0033)

1.6 即用型 DAPI 染液 (Cat# NBS1206)

1.7 (可选) 牛血清白蛋白 (第五组分) (Bovine Serum Albumin, BSA) (Cat# NBS0218)

1.8 盖玻片密封液 (透明指甲油)

### 二、染色工作液准备

2.1 于实验前, 将低温保存的 FITC-Phalloidin 置于室温回温至少 20min, 低速离心后才开瓶。第一次使用请将本品按照单次用量进行分装, 置于-20℃密封避光干燥保存, 一年稳定。

2.2 本品以 1000×DMSO 储存液形式提供。开始实验前, 使用含 1% BSA 的 1×PBS Buffer (pH 7.4) 将其稀释到 1×染色工作液 (比如: 1μl 储存液加入 1ml 含 1% BSA 的 PBS Buffer), 用枪吹匀即可。

【注①】: 以 96 孔板为检测体系, 按照 100μl/孔来计算, 准备足量的染色工作液; 也可对细胞爬片进行染色, 但需调整染色工作液的用量, 以能覆盖住细胞为准。

【注②】: 最佳的工作浓度和孵育时间取决于特定的应用 (初次实验, 可在 1:1000~1:2000 的稀释倍数范围内进行浓度优化)。根据特定的细胞类型和/或细胞/组织对探针的通透性来调整合适的染色条件。

【注③】: 建议使用含 1% BSA 的 PBS Buffer 稀释储存液, 能够降低非特异背景染色, 也能最小化鬼笔环肽粘附到管壁的可能性。若无现成的 BSA, 可替代使用 1×PBS Buffer (pH 7.4), 以能得到理想结果为宜。

【注④】: 染色工作液现配现用, 室温避光保存。

### 三、染色流程 (以 96 孔板为例)

- 3.1 用黑框/透明底的 96 孔板进行细胞培养, 使其贴壁生长达到 70-80%的汇合度。
- 3.2 吸掉培养液, 用 37°C预热的 1×PBS Buffer (pH 7.4) 清洗细胞 2 次。
- 3.3 用溶于 PBS 的 4%多聚甲醛固定细胞, 室温固定 10-30min。【注意】: 固定过程中甲醇能破坏肌动蛋白, 因此, 固定液中最好避免接触任何甲醇。最好的固定液是无甲醇的甲醛。
- 3.4 用 1×PBS Buffer 清洗细胞 2-3 次, 室温下 30s/次。
- 3.5 【可选】用破膜缓冲液透化细胞以提高染料的渗透性, 室温处理 5min。
- 3.6 用 1×PBS Buffer 清洗细胞 2-3 次, 室温下 30s/次。
- 3.7 取 100μl 现配的 FITC-Phalloidin 染色工作液到每个孔内, 完全覆盖细胞, 室温避光孵育 20-90min。  
**【注意】: 通常情况 4°C-37°C都适合用于染色。**
- 3.8 用 1×PBS Buffer 清洗细胞 2-3 次, 室温下 30s/次。
- 3.9 【可选】加入 100μl 即用型 DAPI 染色液或其他不同于 FITC 荧光光谱的细胞核染色液对细胞核复染, 室温约 5min。【注意】: 细胞核复染时间可自行调整; 细胞核复染也可以放到步骤 3.7 中进行。
- 3.10 用 1×PBS Buffer 清洗细胞 2-3 次, 室温下 30s/次。
- 3.11 【可选】加抗荧光淬灭剂 (如 Fluoromount-G 抗荧光淬灭封片剂, Cat# NBS0032) 到孔内保护荧光。
- 3.12 荧光显微镜下观察染色结果, 选择 FITC 激发/发射滤片 (Ex/Em=492/518nm)。若做细胞核染色, 选择合适滤片, 比如 DAPI 激发/发射滤片 (Ex/Em=364/454nm)。

#### 注意事项:

1. 本品具有一定的毒性, LD50=2mg/kg, 操作时请注意防护。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!

**相关产品：**

| 产品编号                | 产品名称  | 规格   | Ex/Em   | 分子量     |
|---------------------|---|------|---------|---------|
| <u>NBS5800-1mg</u>  | <u>Phalloidin 鬼笔环肽</u>                          | 1mg  | N/A     | ~788.87 |
| <u>NBS5829-1mg</u>  | <u>Amino Phalloidin 氨基鬼笔环肽</u>                  | 1mg  | N/A     | ~901.91 |
| <u>NBS5830-300T</u> | <u>FITC Phalloidin FITC 标记鬼笔环肽</u>              | 300T | 492/518 | ~1100   |
| <u>NBS5831-1mg</u>  | <u>FITC Phalloidin (Powder) FITC 标记鬼笔环肽</u>     | 1mg  | 492/518 | ~1100   |
| <u>NBS5832-300T</u> | <u>TRITC Phalloidin TRITC 标记鬼笔环肽</u>            | 300T | 546/575 | ~1000   |
| <u>NBS5833-1mg</u>  | <u>TRITC Phalloidin (Powder) TRITC 标记鬼笔环肽</u>   | 1mg  | 546/575 | ~1000   |
| <u>NBS5817-1mg</u>  | <u>5-TAMRA Phalloidin 5-TAMRA 标记鬼笔环肽</u>        | 1mg  | 546/575 | ~1200   |
| <u>NBS5834-300T</u> | <u>iFluor™ 350 Phalloidin iFluor 350 标记鬼笔环肽</u> | 300T | 353/442 | ~1000   |
| <u>NBS5835-300T</u> | <u>iFluor™ 405 Phalloidin iFluor 405 标记鬼笔环肽</u> | 300T | 400/421 | ~1400   |
| <u>NBS5836-300T</u> | <u>iFluor™ 488 Phalloidin iFluor 488 标记鬼笔环肽</u> | 300T | 492/518 | ~1900   |
| <u>NBS5837-300T</u> | <u>iFluor™ 555 Phalloidin iFluor 555 标记鬼笔环肽</u> | 300T | 556/574 | ~1300   |
| <u>NBS5838-300T</u> | <u>iFluor™ 594 Phalloidin iFluor 594 标记鬼笔环肽</u> | 300T | 590/618 | ~1600   |
| <u>NBS5839-300T</u> | <u>iFluor™ 647 Phalloidin iFluor 647 标记鬼笔环肽</u> | 300T | 650/665 | ~2200   |
| <u>NBS5840-300T</u> | <u>iFluor™ 680 Phalloidin iFluor 680 标记鬼笔环肽</u> | 300T | 681/698 | ~2700   |
| <u>NBS5841-300T</u> | <u>iFluor™ 790 Phalloidin iFluor 790 标记鬼笔环肽</u> | 300T | 787/808 | ~2800   |