

SFluor 594 Phalloidin

产品信息

产品名称	编号	规格
SFluor 594 Phalloidin	DY50304	300 T

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和结合于大小纤维, 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。

本品为 SFluor 594 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, 效果优于传统荧光标记的鬼笔环肽, 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。

保存方式

-20°C 避光干燥保存, 1 年有效。

产品性质

最大激发/发射波长 (Ex/Em) : $590\text{nm}/617\text{nm}$

溶解性 (Solubility) : 溶于 DMSO、DMF、甲醇或者乙腈水溶液 (20%)

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 $\times$ SFluor 594 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 SFluor 594 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，SFluor 594 鬼笔环肽使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 50~60%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 SFluor 594 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 SFluor 594 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) 荧光显微镜或者共聚焦显微镜下进行荧光观察。

注意事项：

1. 鬼笔环肽具有毒性，需小心操作。

2. 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。

本产品仅作科研用途