

TRITC Phalloidin 罗丹明标记鬼笔环肽

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 ($K_d = 20 \text{ nM}$) 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。

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。

鬼笔环肽具有毒性，需小心操作 (对人的半数致死剂量 LD_{50} 约 2 mg/kg)。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

型号	规格	外观	存储条件
EFL-FA-001	300T	液体	冰袋运输，-20 避光保存，12 个月

产品性质

分子式 (Molecular Formula)	$C_{60}H_{70}N_{12}O_{13}S_2$
分子量 (Molecular Weight)	1231.4
最大激发/发射波长 (Ex/Em)	540 ~ 546/565 ~ 575nm
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)
溶解性 (Solubility)	溶于 DMSO、DMF、甲醇或者乙腈水溶液 (20%)

使用说明

一、自备材料

甲醇；1×PBS 缓冲液, pH 7.4, 细胞培养级别；固定液 4%多聚甲醛 (溶于 PBS 缓冲液)；透化液 0.5% Triton X-100 (溶于 PBS 缓冲液)；DAPI；BSA；载玻片和盖玻片；抗荧光淬灭剂；盖玻片周围密封液 (如透明指甲油)。

二、工作液配制

本品以溶于甲醇的 20 μ M 储存液形式提供，总量为 300 μ L。按照 100 nM 的工作液浓度换算，可制备总量为 60 mL 的工作液。建议收到产品后，根据单次使用量，对母液进行分装，-20 $^{\circ}$ C 避光封口冻存。

开始实验前，使用 1 \times PBS 配制浓度为 1% (w/v) 的 BSA 溶液作为缓冲液（可降低背景），用缓冲液稀释储存液到需要的工作浓度，常用工作液浓度范围为 80~200nM，工作液现配现用（常用方式：1ml 缓冲液中添加 5 μ L 母液即可）。

三、染色步骤

适用类型：贴壁细胞（培养板或者小室爬片）、类器官及载细胞水凝胶支架

- 1) 吸掉培养液，37 $^{\circ}$ C 预热的 1 \times PBS (pH 7.4) 清洗细胞 2 次。
- 2) 使用溶于 PBS 的 4% 甲醛溶液进行细胞固定，贴壁细胞室温固定 10 min，类器官及载细胞水凝胶支架室温固定 30 min。

【注】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。

- 3) 室温条件下，用 1 \times PBS 清洗样本 2~3 次，每次 5 min。
- 4) 室温条件下，用 0.5% Triton X-100 溶液透化处理 5 min。
- 5) 室温条件下，用 1 \times PBS 清洗样本 2~3 次，每次 3 min。
- 6) 取配制好的工作液，覆盖住样本，室温避光孵育 30min (4 $^{\circ}$ C~37 $^{\circ}$ C 孵育均可)。
- 7) 用 1 \times PBS 清洗盖玻片 3 次，每次 5min。
- 8) 使用适量 DAPI 溶液对细胞核进行复染，贴壁细胞染色约 3 min，类器官及载细胞水凝胶支架染色约 10~30 min。
- 9) 用 1 \times PBS 清洗样本，每次 10 min。贴壁细胞洗涤 1 次即可，类器官及载细胞水凝胶支架染色洗涤 3~6 次。
- 10) **贴壁细胞封片：**滴加抗荧光淬灭剂，盖上盖玻片，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 1 个月内可继续做 F-actin 染色分析。

类器官及载细胞水凝胶支架封片：样本较小时，可滴加抗淬灭剂封片；样本较大时，可不封片，直接置于盖玻片上，滴加抗荧光淬灭剂即可拍照，置于 4 $^{\circ}$ C 避光保存，7 天内有效。

【注】染完当天即观察拍照时，可用 1 \times PBS 替代抗荧光淬灭剂。

- 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)。