

## TRITC Phalloidin TRITC 标记鬼笔环肽

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5832-300T	TRITC Phalloidin TRITC 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 TRITC 荧光标记的鬼笔环肽 (TRITC-Phalloidin), 以溶于甲醇的  $20\mu\text{M}$  储存液形式提供, 具体的工作浓度请参考文献或自身实验体系来调整, 常用浓度范围  $80-200\text{nM}$ 。按照  $100\text{nM}$  的工作浓度来算, 可进行 300 次细胞染色。

### 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°C避光保存, 1 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 TRITC Phalloidin (Cat# NBS5832)

1.2 1.2 1 x 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 刚收到或第一次使用时, 将充分融化的本品 (20 $\mu$ M 储存液) 根据单次使用量进行分装, 置于-20°C避光保存, 一年稳定。

2.2 正式实验前, 使用 1 $\times$ PBS Buffer (pH 7.4) 稀释储存液到需要的工作浓度, 常用的工作浓度范围为 80-200nM。可以 100nM 为起始工作浓度, 最佳的工作浓度请参考文献或根据实验室现有体系来摸索。

【注①】: 可使用含 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。

【注②】: 染色工作液现配现用, 室温避光保存。

### 三、染色流程

3.1 细胞爬片培养, 使其密度至少达半汇合。

3.2 吸掉培养液, 用 37°C预热的 1 $\times$ 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 10min。【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 $\times$ PBS Buffer 清洗细胞 2-3 次, 室温下 30s/次。

- 3.5 用破膜缓冲液透化细胞，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 200μl 现配的 TRITC-Phalloidin 染色工作液，完全覆盖盖玻片上的细胞，室温避光孵育 30min。【注意】：通常情况 4°C-37°C 都适合用于染色。为了避免工作液的挥发，孵育过程将盖玻片置于一密封的容器内。
- 3.8 用 1×PBS Buffer 清洗细胞 2-3 次，室温下 30s/次。
- 3.9 取 200μl DAPI 溶液 (100nM) 或商业化的即用型 DAPI 染色液对细胞核复染，室温约 30s。
- 3.10 用 1×PBS Buffer 清洗细胞 1-2 次，室温下 30s/次。
- 3.11 将盖玻片倒置在滴有一滴抗荧光淬灭剂 (如 Fluoromount-G 抗荧光淬灭封片剂, Cat# NBS0032) 的载玻片上。用纸巾轻轻吸掉多余淬灭剂，然后用透明指甲油密封盖玻片四周。将此法处理玻片置于 4°C 避光存放至少 6 个月仍能维持 F-actin 染色。  
【可选】：完成步骤 3.8 后，直接将盖玻片倒置在含 DAPI 的抗荧光淬灭剂 (如 DAPI Fluoromount-G 抗荧光淬灭封片剂, Cat# NBS0033) 的载玻片上。然后吸掉多余淬灭剂并用指甲油密封盖玻片四周。
- 3.12 荧光显微镜下观察染色结果，选择 TRITC 激发/发射滤片 (Ex/Em=546/575nm) 和 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. 本品 (Cat#NBS5832) 以溶于甲醇的储存液 (20μM) 形式提供，300T 包装，适合用量少的研究者；另提供冻干粉形式 (Cat# NBS5833)，1mg 包装，相对更经济，适合用量多的研究者；
3. 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它用途！

**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