

Filipin III (Cholesterol fluorescent probe) 胆固醇荧光探针

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5101-500ug	Filipin III (Cholesterol fluorescent probe) 胆固醇荧光探针	500ug
NBS5101-1mg	Filipin III (Cholesterol fluorescent probe) 胆固醇荧光探针	1mg
NBS5101-5mg	Filipin III (Cholesterol fluorescent probe) 胆固醇荧光探针	5mg

产品简介:

菲律宾菌素 III (Filipin III) 是一种五烯大环内酯抗生素, 是分离自菲律宾链霉菌 (*S. filipinensis*) 培养物的四种多烯大环内酯异构体中的占比最多的一种。归因其发荧光且特异性结合胆固醇的特性, 菲律宾菌素 III 常常通过冷冻断裂电镜术和结合后降低的荧光来检测膜上的胆固醇。菲律宾菌素 III 用在番茄细胞中, 观察激活配体非依赖性的信号反应。通过菲律宾菌素 III 和胆固醇的螯合活性, 破坏正常和转染角质细胞的脂筏, 抑制 AKT 信号通路。菲律宾菌素 III 复合物最大激发波长是 338 和 357nm, 最大发射波长是 480nm。

产品特征:

- 1) CAS NO.: 480-49-9
- 2) 化学名:
4S,6S,8S,10R,12R,14R,16S,27S-octahydroxy-3R-(1R-hydroxy-hexyl)17,28R-dimethyl-oxacyclooctacos-17E,19E,21E,21E,23E,25E-pentaen-2-one
- 3) 同义名: 16,20,22,24-Octacosapentenoic acid; 16,20,22,24-Octacosapentenoic acid; 3,5,7,9,11,13,15,26,27- nonahydroxy-2-(1-hydroxyhexyl)-16-methyl-, 27-lactone; NSC3364; NSC-3364;
- 4) 分子式: C₃₅H₅₈O₁₁
- 5) 分子量: 654.8
- 6) 纯度: ≥90%
- 7) 外观: 固体
- 8) 溶解性: 溶于 DMSO (10mg/ml)、DMF (5mg/ml)、乙醇 (1mg/ml)、DMSO:PBS(pH 7.2)(1:4) (0.2mg/ml)

保存条件:

-20°C避光干燥保存, 至少 2 年有效。

产品使用：

以下是针对细胞样本的染色方法，仅作参考。用户需根据实际染色样本和染色条件来优化。

1、储存液的制备

将低温保存的固体平衡至室温至少 20min，低速离心后，于无菌工作台内加入适量有机溶剂（比如：无水高质量 DMSO）配置成 10mg/ml (=15.2718mM) 的储存液。

2、工作液的制备

于正式实验前，用 PBS、HBSS 或其他生理缓冲液稀释储存液，到所需的工作浓度，比如：10-100 μ g/ml。最佳的工作浓度请参阅文献或自行设置梯度浓度进行摸索。工作液必须现配现用。

3、染色步骤（室温进行）

应用示例（来自文献，仅做参考）

1) 用 Filipin III 进行染色，验证 U18666A 诱导吞噬体样囊泡中的胆固醇积累。CU428 和 I18G-1A 细胞用 2 μ M U18666A 或溶剂对照处理 15min，之后加入 26 μ M 胆固醇。1h 后，样本转移到离心管，清洗后重悬于 100 μ l Tris-HCl，加入等体积 4%多聚甲醛-3.4%蔗糖室温固定 15min。用 PBS 清洗后，重悬于 100 μ l PBS 中，加入 50 μ g/ml Filipin III（储存液溶于 DMSO，浓度是 5mg/ml，充入氮气后，-80 $^{\circ}$ C冻存）室温孵育 1h，保持震荡，最后细胞清洗 2 次后，重悬于 40 μ l PBS，滴加到载玻片上进行观察和成像分析。用 UV-2A 滤波器组合观察，用 Fiji 软件进行成像处理和数据分析。

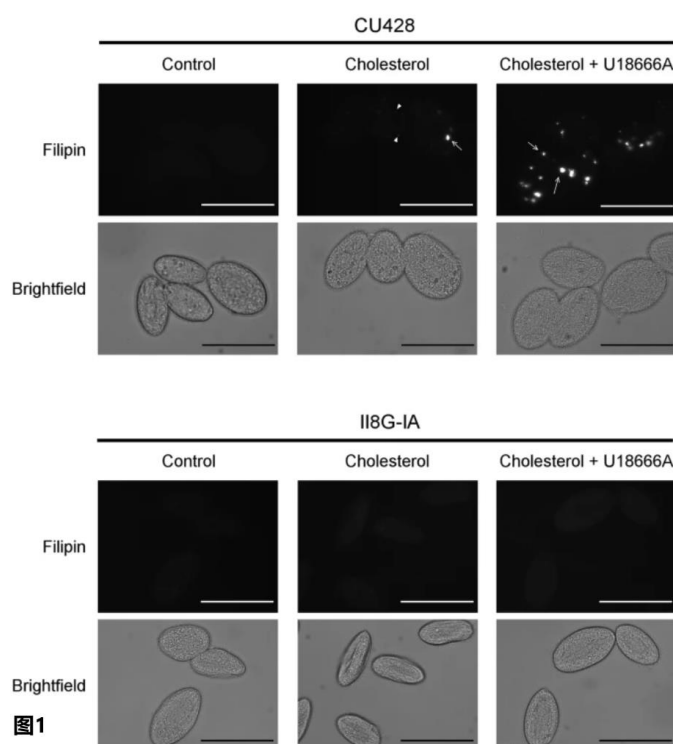


图1

(图 1) Fluorescent microscopy. CU428 and II8G-IA cells were pretreated with 2 μ M U18666A or vehicle for 15 min prior to the addition of 26 μ M cholesterol. Untreated cells are designated as Control. After 1 h, cells were fixed, stained with Filipin and examined by fluorescence microscopy. Arrows indicate large, phagosome-like vesicles and arrowheads indicate selected small vesicles that were also observed in some cells. To improve visualization, some of the background fluorescence of CU428 cells was allowed, although II8G-IA cells required more contrast stretching as fluorescence levels were identical between treatments. Scale bar = 50 μ m. Results shown are representative experiment repeated three times with similar results.

2) 用 Filipin III 进行染色, 验证 M β CD 处理后细胞膜胆固醇水平的降低。Vero 细胞铺板在 96 孔板, 用不同浓度的 M β CD (2.5, 5, 7.5 和 10 mM) 诱导处理 45 min。用冰 PBS 清洗 3 次, 细胞用 4%多聚甲醛固定。之后, 细胞膜胆固醇用稀释于 PBS 的 50 μ g/ml Filipin III (储存液溶于 DMSO, 浓度是 25mg/ml) 孵育 2h。高容量成像系统基于 Filipin III 的荧光强度来定量细胞膜胆固醇水平。

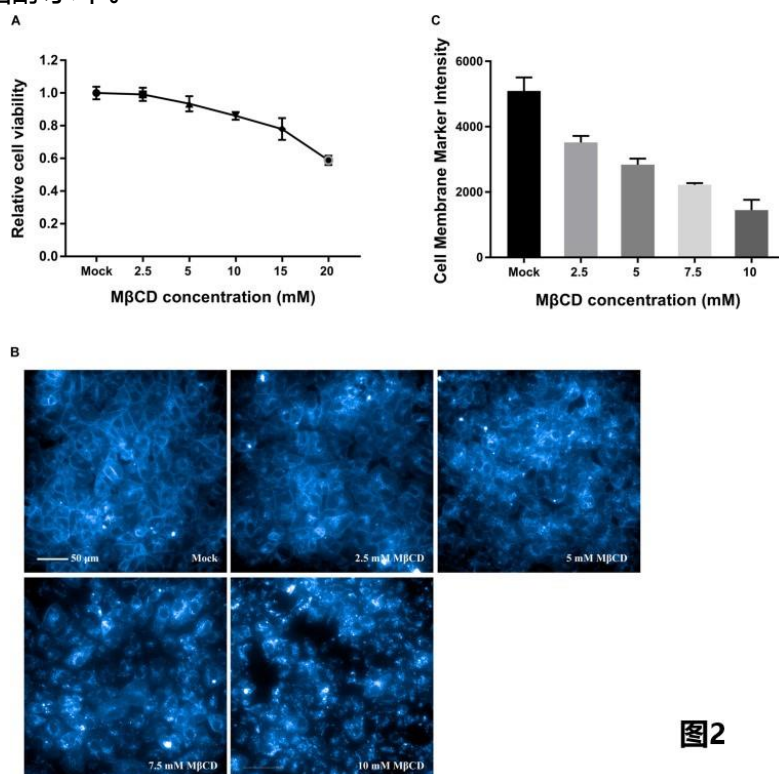


图2

(图 2) Vero cells were plated in 96-well plates and treated with various concentrations of M β CD (2.5, 5, 7.5, and 10 mM) for 45 min. Cell membrane cholesterol was labeled with 50 μ g/mL filipin III, and images were acquired with the Operetta CLSTM High-Content Analysis System.

注意事项:

1. 为了让化合物更好的溶解, 可通过 37°C加热或 (和) 超声波水浴中震动片刻来处理。若实验所需浓度过大甚至达产品溶解极限, 请添加助溶剂助溶或自行调整浓度。
2. 菲律宾菌素 III 与胆固醇的相互作用会改变吸收和荧光光谱, 为此, 在做荧光显微镜成像分析时, 使用 340-380nm 作为激发波长, 385-470nm 作为发射波长。

3. 菲律宾菌素 III 的荧光染色漂白非常迅速，因此，染色后样本务必尽快分析。
4. 菲律宾菌素 III 溶液对光和空气都非常敏感。条件允许的话，配置好的溶液分装冻存，且充入惰性气体，-80℃分装冻存，避免反复冻融。
5. 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	包装规格
<u>NBS5101-500ug</u>	<u>Filipin III (Cholesterol fluorescent probe) 胆固醇荧光探针</u>	500ug
<u>NBS5102-1mg</u>	<u>Filipin Complex, ≥70% 菲律宾菌素复合物</u>	1mg
<u>NBS5103-5mg</u>	<u>Filipin Complex, ≥95% 菲律宾菌素复合物</u>	5mg
<u>NBS5104-500ug</u>	<u>BODIPY 480/508-Cholesterol 胆固醇荧光探针</u>	500ug
<u>NBS5106-1mg</u>	<u>Dehydroergosterol (DHE) 脱氢麦角甾醇</u>	1mg