

## FITC Phalloidin FITC 标记鬼笔环肽

### 产品信息:

**产品名称:** FITC Phalloidin FITC 标记鬼笔环肽

### 规格:

目录号	产品名称	规格
X12064	FITC Phalloidin FITC 标记鬼笔环肽	300T
X12065	FITC Phalloidin (Powder) FITC 标记鬼笔环肽	1mg

### 特性说明:

分子式	$C_{56}H_{60}N_{10}O_{15}S_2$
分子量	1177.3 g/mol
Ex/Em	495~496/513~516nm
多肽序列	FITC-bicyclic(Ala-DThr-Cys-cis-4-hydroxy-Pro-Ala-2-mercapto-Trp-4-hydroxy-5-amino-Leu)(S-3 to 6)
外观	黄色粉末 (冻干粉)
溶解性	溶于 DMSO、DMF、甲醇或者乙腈水溶液 (20%)
运输条件	冰袋运输
储存条件	-20°C 保存, 1 年有效期

### 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合力结合于大小纤维, 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。另外鬼笔环肽衍生物很小, 直径约 12-15Å, 分子量 < 2000 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 < 1µg/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 FITC 标记的鬼笔环肽, 染色反应特异性强, 对比度高, 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。

我司分别提供冻干粉形式和储存液形式的 FITC 标记鬼笔环肽, 用户根据自身需求选择。建议使用浓度为 80~200nM。

## 操作说明：

### 需要自备材料

- 1) (可选) 甲醇
- 2) 1×PBS 缓冲液, pH 7.4, 细胞培养级别
- 3) 固定液 4%多聚甲醛 (溶于 PBS 缓冲液)
- 4) 丙酮或透化液 0.5% Triton X-100 (溶于 PBS 缓冲液)
- 5) Fluoromount-GTM 水溶性封片剂 (不含 DAPI) , DAPI
- 6) (可选) DAPI Fluoromount-GTM 水溶性封片剂 (含 DAPI)
- 7) (可选) BSA, 标准级别
- 8) 载玻片和盖玻片
- 9) 盖玻片周围密封液 (如透明指甲油)
- 10) 组装有 FITC 激发/发射滤片, 以及 DAPI 激发/发射滤片的荧光显微镜或共聚焦显微镜。

### 1. 工作液准备

- 1) 对于 FITC 标记鬼笔环肽

本品以溶于甲醇的 20 $\mu$ M 储存液形式提供, 总量为 300 $\mu$ l。按照 100 nM 的工作液浓度来换算, 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, 对母液进行小量分装, -20 $^{\circ}$ C 避光冻存, 一年稳定。

开始实验前, 使用 1×PBS 缓冲液稀释储存液到需要的工作浓度。推荐工作浓度为: 80~200nM。工作液现配现用。

- 2) 对于 FITC 标记鬼笔环肽

本品以冻干粉形式提供, 分子量为 1177.3, 总量为 1mg。可先用甲醇或者 DMSO 充分溶解配制成 20~100 $\mu$ M 的储存液。如, 加入 8.494ml 甲醇到 1mg 鬼笔环肽即得到 100 $\mu$ M 等量的储存液, 根据单次使用量, 进行小量分装, -20 $^{\circ}$ C 避光冻存, 一年稳定。

开始实验前, 使用 1×PBS 缓冲液稀释储存液到需要的工作浓度。推荐工作浓度为: 80~200nM。工作液现配现用。

### 2. 染色步骤

- 1) 细胞爬片生长 24h, 使其密度达到 50%汇合度。
- 2) 吸掉培养液, 37 $^{\circ}$ C 预热的 1×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 10min。  
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 200 $\mu$ l 配制好的 FITC 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 FITC 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) 使用 200 $\mu$ l DAPI 溶液 (浓度: 100 nM) 对细胞核进行复染, 约 30s。
- 10) 用 PBS 清洗盖玻片, 然后倒置在已经滴有一滴 Fluoromount-GTM 水溶性封片剂的载玻片上。使用

纸巾轻轻擦掉多余封片剂，然后用指甲油永久封片。此法制备的标本玻片可置于 4°C 避光保存，通常 6 个月内可继续做 F-actin 染色分析。

注意：也可以直接使用含有 DAPI 的抗荧光淬灭封片剂合并步骤 9) 10)，简化步骤。

11) 荧光显微镜或者共聚焦显微镜下进行荧光观察，选择 FITC 激发/发射滤片 (Ex/Em=496/516nm) 和 DAPI 激发/发射滤片 (Ex/Em=364/454nm)。

#### **注意事项：**

- 1) 鬼笔环肽具有毒性，需小心操作（对人的半数致死剂量 LD50 约 2mg/kg）。
- 2) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**本产品仅供科研使用，不可用于临床诊断应用或其他用途。**