HB240410

**FITC Phalloidin FITC标记鬼笔环肽**

**产品信息**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **产品名称** | **产品编号** | **规格** | **价格** |
| FITC Phalloidin FITC标记鬼笔环肽 | 40735ES75 | 300 T | 1533.00 |

**背景描述**

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（Kd= 20 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。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＜1 µg/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。

我司提供储存液形式（浓度为20 µM）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80~200 nM。

**产品性质**

|  |  |
| --- | --- |
| **分子式（Molecular Formula）** | C56H60N10O15S2 |
| **分子量（Molecular Weight）** | 1177.3 |
| **最大激发/发射波长（Ex/Em）** | 495~496/513~516 nm |
| **多肽序列（Sequence）** | FITC-bicyclic(Ala-DThr-Cys-cis-4-hydroxy-Pro-Ala-2-mercapto-Trp-4-hydroxy-5-amino-Leu)(S-3 to 6) |
| **外观（Appearance）** | 淡黄色至黄色溶液 |

**运输与保存方法**

冰袋运输。-20 ℃避光干燥保存，1年有效。

**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2 mg/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。

3）本产品仅作科研用途！

**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）（货号：36307ES08），DAPI（货号：40727ES10）

6）（可选）DAPI Fluoromount-GTM 水溶性封片剂（含DAPI）（货号：36308ES11）

7）（可选）BSA，标准级别（货号：36101ES25）

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

**操作步骤**

**1. 工作液准备**

本品以溶于甲醇的20 µM储存液形式提供，总量为300 µL。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 ℃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：80~200 nM。工作液现配现用。

**2. 染色步骤**

1）细胞爬片生长24 h，使其密度达到50%汇合度。

2）吸掉培养液，37℃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10 min。

**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10 min。

5）室温条件下，用丙酮（≤-20℃）脱水或者用0.5% Triton X-100溶液透化处理5 min。

6）室温条件下，用PBS清洗细胞2~3次，每次10 min。

7）取200 µL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30 min（通常情况下，4 ℃~37 ℃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5 min。

9）使用200 µL DAPI溶液（浓度：100 nM）对细胞核进行复染，约30 s。

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。使用纸巾轻轻檫掉多余封片剂，然后用指甲油永久封片。此法制备的标本玻片可置于4 ℃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（货号：36308ES11）合并步骤9）10），简化步骤。**

1. 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=496/516 nm）和DAPI激发/发射滤片（Ex/Em=364/454 nm）。