

## iFluor™ 700 phalloidin iFluor™ 700 标记鬼笔环肽（红色）

### 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（ $K_d=20$  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。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 < 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，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 iFluor™ 700 标记的鬼笔环肽，可发出高亮度、光稳定的近红外荧光，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。iFluor™ 700 鬼笔环肽染色与用于细胞分析的其他荧光染色完全兼容，包括荧光蛋白、Qdot® 纳米晶体和其他 iFluor™ 偶联物（包含 iFluor™ 偶联二抗）。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。

本品以 1 mg/mL 的浓度提供。

### 产品信息

货号	40789ES75
规格	300 T
分子量	~3000
最大激发/发射波长 (Ex/Em)	690/713 nm
溶解性 (Solubility)	溶于 DMSO

### 组分信息

组分编号	组分名称	40789ES75
40789	iFluor™ 700 phalloidin iFluor™ 700 标记鬼笔环肽（红色）	300 T

### 储存条件

冰袋运输，-25~-15°C 保存，有效期 1 年。

### 使用说明

#### 1. 需要自备材料

- 1) 1×PBS 缓冲液, pH 7.4, 细胞培养级别 (货号: 60145ES76)
- 2) 固定液 4% 多聚甲醛 (不含甲醇) (溶于 PBS 缓冲液) (货号: 36314ES60)

- 3) 透化液 Triton X-100 (溶于 PBS 缓冲液)
- 4) BSA, 标准级别 (货号: 36101ES25)
- 5) DAPI 染液 (即用型) (货号: 40728ES50)

## 2. 1×工作液准备

吸取 1 μL 1000×iFluor™ 700 标记鬼笔环肽 (溶于 DMSO) 到 1 mL 含有 1% BSA 的 PBS 缓冲液中即可得到 1×工作液。

注: 1) 使用前需将 1000×DMSO iFluor™ 700 鬼笔环肽储存液分装并于 -20°C 避光干燥保存。

2) 不同的细胞染色情况不同, 相应 iFluor™ 700 鬼笔环肽用量也需根据不同情况而定。

## 3. 染色步骤

- 1) 细胞培养过夜或更长, 使其密度达到 50-60% 汇合度。
  - 2) 吸掉培养液, 37°C 预热的 1×PBS (pH7.4) 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 10-30 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) (可选): 室温条件下, 用溶于 PBS 的 0.1% Triton X-100 溶液透化处理 3-5 min, 从而增加其通透性。
  - 6) 室温条件下, 用 PBS 清洗细胞 2~3 次, 每次 10 min。
  - 7) 取足够量新鲜配好的 iFluor™ 700 标记鬼笔环肽工作液以覆盖住细胞, 如: 100 μL/孔 (96 孔板), 室温避光染色 20-90 min。
  - 8) 用 PBS 清洗细胞 3 次, 每次 5 min。
  - 9) (可选): 加入足量的即用型 DAPI 溶液对细胞核进行复染, 如: 100 μL/孔 (96 孔板), 室温 3~5 min。用 PBS 清洗细胞 2 次, 每次 5 min。
  - 10) 于荧光显微镜或者共聚焦显微镜下进行荧光观察, 选择 iFluor™ 700 激发/发射滤片 (Ex/Em=690/713 nm) 和/或 DAPI 激发/发射滤片 (Ex/Em=364/454 nm)。

## 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. 本产品仅作科研用途。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。