

产品说明书

产品名称: Dye Phalloidin Conjugates (染料标记鬼笔环肽)

货号	名称	Abs/Em (nm)
SB-YP0059-50T	488-Phalloidin 488 标记鬼笔环肽(绿色)	490/515
SB-YP0059-300T		
SB-YP0060-50T	555-Phalloidin 555 标记鬼笔环肽(橙红)	555/565
SB-YP0060-300T		
SB-YP0052-50T	594-Phalloidin 594 标记鬼笔环肽(红色)	593/614
SB-YP0052-300T		
SB-YP0053-50T	633-Phalloidin 633 标记鬼笔环肽(远红)	630/650
SB-YP0053-300T		
SB-YP0055-50T	680-Phalloidin 680 标记鬼笔环肽(远红)	681/698
SB-YP0055-300T		

注意事项

本产品为冻干粉形式,微量不易观察,使用前请瞬时离心,加适当溶剂溶解后使用,溶解后的溶液近乎透明色。

储存条件

-20℃干燥、避光保存,有效期见外包装。若配制成水溶液,应小量分装保存。

产品介绍

鬼笔环肽是从致命的伞形毒蕈蘑菇中分离出来的一种毒素。 它是特异性结合于 F-肌动蛋白的双环肽。因此用荧光染料标记的鬼笔环肽可以非常方便的研究 F-肌动蛋白的分布。鬼笔环肽内部,在半胱氨酸和色氨酸之间含有不常见的硫醚桥形成内环结构。在 pH 升高时,该硫醚被裂解,鬼笔环肽失去对肌动蛋白的亲和力。

上海圣尔生物科技有限公司旗下的一系列新一代荧光染料,与其他荧光染料相比,在亮度、光稳定性和水溶性方面具有综合优势。荧光标记的鬼笔环肽可在纳摩尔水平染色F-肌动蛋白。在各种植物细胞或动物细胞中,标记的鬼笔环肽对大、小细丝具有相似的亲和力,平均每个肌动蛋白亚基结合一个鬼笔环肽分子。不同于抗体,鬼笔环肽与肌动蛋白的结合亲和力在不同物种间没有显著变化。非特异性染色可以忽略不计,染色和未染色区域之间的对比度非常大。鬼笔环肽将单体/聚合物的平衡转向聚合状态,将聚合临界浓度降低至30倍。Phallotoxins可通过抑制细胞松弛素的解聚,碘化钾和升高的温度,稳定F-肌动蛋白,。因为鬼笔环肽缀合物很小,大约直径12-15埃,分子量<2000道尔顿,多种肌动蛋白结合蛋白,包括肌球蛋白,原肌球蛋白和后肌钙蛋白依然可以和鬼笔环肽标记的肌动蛋白结合。更重要的是,鬼笔环肽标记的肌动蛋白丝保持功能,标记甘油肌纤维仍然



收缩,标记的肌动蛋白丝仍然可以继续移动。而且荧光标记的鬼笔环肽也可用于对细胞中 F-肌动蛋白进行定量研究。

实验方法

储液制备

圣尔荧光染料标记的鬼笔环肽: 取适量甲醇或无菌水溶解棕色管中冻干的粉末,制备成 200 T/mL 的储液(300T 规格染料加入 1.5 mL 的液体,50T 规格染料加入 0.25 mL 的液体即可)。

圣尔标记鬼笔环肽的一个单位 (T) 的定义是染色一个加载细胞的载玻片所用染料的量。 对于标记的鬼笔环肽,使用时的推荐稀释比例为 1:40-1:200,一个单位相当于 200 μL 总染色体积中加入 1-5 μL 200T/mL 储备溶液。

注:稀释比例可以根据实际染色效果进行适当调整。 **固定细胞染色**

以下方案是针对生长在玻璃盖玻片或 8 孔室玻片上的 贴壁细胞的染色步骤。鬼笔环肽也可用于染色固定的冷冻或 石蜡组织切片。

- 1. 用 PBS 清洗细胞 3 次。
- 2. 用含有 3.75% 甲醛的 PBS 溶液固定细胞,冰上固定 15 min。 动蛋白分布和细胞运动。

注意:甲醇可以在固定过程中破坏肌动蛋白。因此最好避免 含有任何甲醇的固定剂。优选的固定剂是不含甲醇的甲醛。

- 3. 用 PBS 清洗细胞 3 次。
- 4. 用含 0.5% Triton X-100 的 PBS 溶液在室温下透化细胞 10 min。
- 5. 用 PBS 清洗细胞 3 次。
- 6. 用 200 μ L PBS 稀释 1-5 μ L 荧光标记的鬼笔环肽储液,加入一个盖玻片或孔中,室温孵育 20 \min ,进行染色。
- 注:染色体积可根据样本情况进行调节。孵育过程中为避免 染液挥发,可将盖玻片放于密封容器内。
- 7. 用 PBS 清洗细胞 2-3 次。
- 8. 荧光显微镜观察。标记的鬼笔环肽具有很好的光稳定, 样品可以在 PBS 中成像,但为了效果最佳,也可以使用抗 荧光淬灭剂观察。

活细胞染色

炭光标记的鬼笔环肽不具有细胞透性,因此没有被广泛 用于活细胞标记。然而,有报道称活细胞可能通过胞饮或未 知机制进行标记。一般来说,染色活细胞时需要更多的染料。 或者,荧光标记的鬼笔环肽也可被注入到细胞中用于监测肌

动蛋白分布和细胞运动。