

FITC 标记鬼笔环肽（微丝绿色荧光探针）

Phalloidin/FITC

产品编号： C8013

保存条件： -20°C避光干燥保存，有效期1年。

产品介绍： **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 $12\text{-}15\text{\AA}$ ，分子量 $<2000 \text{ Daltons}$ ，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。

工作液配制：

本品为 $20\mu\text{M}$ 储存液，总量为 $300\mu\text{L}$ 。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，根据单次使用量分装保存，-20°C避光冻存，一年稳定。

实验前，用 $1\times$ PBS稀释储存液到需要的工作浓度。推荐工作浓度为： $80\text{-}200\text{nM}$ (1:100-250 倍稀释)，工作液现配现用。**最佳稀释比例可以根据实际染色效果进行适当调整。**

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℃预热的1×PBS (pH 7.4) 清洗细胞 2 次。

3. 使用4%甲醛PBS溶液进行细胞固定，室温固定10min。

注：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（≤-20℃）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200μl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℃~37℃孵育皆可）。

注：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. 用200μl DAPI溶液（浓度：100nM）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℃避光保存，通常6个月内可继续做F-actin染色分析。

注：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。

11. 荧光显微镜或者共聚焦显微镜下进行荧光观察，FITC

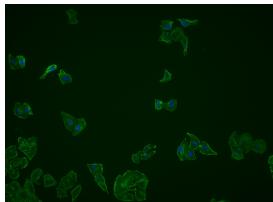
(Ex/Em=496/516nm)，DAPI(Ex/Em=364/454nm)。

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。

产品图片



HeLa cell; 4% Paraformaldehyde-fixed; Triton X-100 at room temperature for 20 min; followed by a conjugated Goat Anti-Rabbit IgG antibody at 37°C for 90 minutes, phalloidin was used to stain actin. The Nuclear counterstain was DAPI(blue, C02-04002).

PRODUCT SPECIFIC PUBLICATIONS

[IF=7.94] Shan He. et al. 3-D tissue-engineered epidermis against human primary

keratinocytes apoptosis via relieving mitochondrial oxidative stress in wound healing. J TISSUE ENG. ;(): Other ; . 37025157

[IF=5.7] Chang Liu. et al. Stability, biomechanics and biocompatibility analysis following different preparation strategies of hierarchical zeolite coatings on titanium alloy surfaces. FRONT BIOENG BIOTECH. 2023; 11: 1337709 Other ; . 38188487

[IF=5.085] Weiyu Feng. et al. Graphene oxide leads to mitochondrial-dependent apoptosis by activating ROS-p53-mPTP pathway in intestinal cells. INT J BIOCHEM CELL B. Int J Biochem Cell B. 2022 May;146:106206 Other ; . 35398141

[IF=5.2] Jiaxin Zhang. et al. Hierarchical zeolite coatings featuring a spatial gradient architecture for sequentially-controlled bisphosphonate release in the modulation of osteogenic–osteoclastic balance. MICROPOR MESOPOR MAT. 2024 Apr;370:113060 Other ; . 10.1016/j.micromeso.2024.113060

[IF=4] Zhang Jiaxin. et al. Bioinspired Hollow Mesoporous Silica Nanoparticles Coating on Titanium Alloy with Hierarchical Structure for Modulating Cellular Functions. J BIONIC ENG. 2024 Apr;:1-15 Other ; . 10.1007/s42235-024-00511-9