www.bioss.com.cn
sales@bioss.com.cn
techsupport@bioss.com.cn
400-901-9800

AbFluor® 647 标记鬼笔环肽（微丝远红荧光探针）
Phalloidin/AbFluor® 647

产品编号： C8003

保存条件： -20℃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（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。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AbFluor 647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 20μM 储存液，总量为 300μL。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℃避光冻存，一年稳定。

实验前，用 1×PBS稀释储存液到需要的工作浓度。推荐工作浓度为：80~200nM（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：

Important Note: This product as supplied is intended for research use only, not for use in human, therapeutic or diagnostic applications.

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 AbFluor 647 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 AbFluor 647 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：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：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，AbFluor 647（Ex/Em=652/668nm），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。

Important Note: This product as supplied is intended for research use only, not for use in human, therapeutic or diagnostic applications.