

Rhodamine Phalloidin 罗丹明标记鬼笔环肽

货号: RM02835

规格: 0.2 mL

◆ 产品简介

鬼笔环肽是从担子类真菌死亡帽蘑菇(death cap mushroom)鬼笔鹅膏(Amanita phalloides)中分离出来的一种环状七肽毒素, 可特异性与真核生物的丝状的肌动蛋白(filamentous actin, F-actin)结合, 从而阻止肌动蛋白解聚。微丝(microfilaments)是由肌动蛋白分子螺旋状聚合成的纤丝, 所以鬼笔环肽最终可以破坏细胞内微丝的聚合-解聚动态平衡, 而对细胞产生毒性。利用鬼笔环肽具有使微丝保持稳定这一生物学特点, 使用荧光染料标记的鬼笔环肽可以非常方便的显示细胞内微丝的形态和分布, 从而使荧光标记鬼笔环肽广泛应用于生物和医学研究。

罗丹明标记的肌动蛋白发出具有高亮度和光稳定性的红色荧光。最大激发波长为 540nm, 最大发射波长为 565nm。罗丹明标记鬼笔环肽的荧光光谱和 Cy3 比较接近, 可以用 Cy3 的检测条件进行检测。

本品使用时的推荐稀释比例为 1:40-200, 可以配制 8-40mL 染色液。如果每个样品需要使用 200μl 染色工作液, 每个包装的本品足够用于 40-200 个样品的染色。注意具体的稀释比例请根据自己试验体系来调整。

◆ 检测结果

本产品可以用于细胞或组织内的 F-actin 的荧光检测。

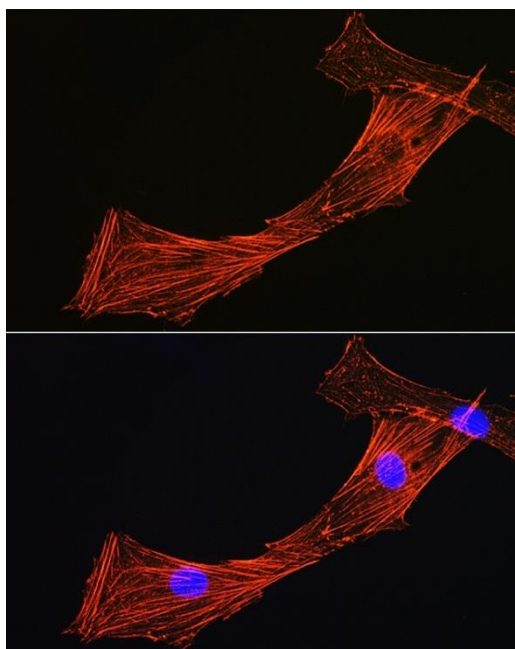
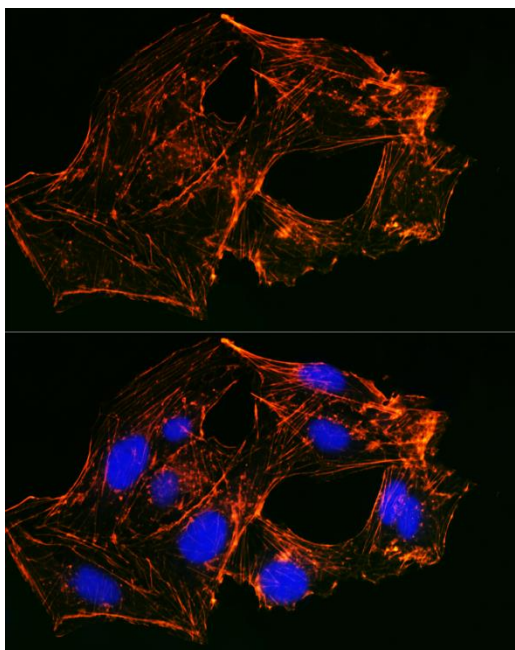


图: 罗丹明标记鬼笔环肽染色 NIH-3T3 (小鼠成纤维细胞)微丝的效果。图中红色为罗丹明标记鬼笔环肽染色, 蓝色为 DAPI 染色。染色实验在 96 孔板中进行, 罗丹明标记鬼笔环肽稀释比例为 1:80, 本图仅作参考, 不同样品检测条件不同, 实际获得的结果可能有所差别。



图：罗丹明标记鬼笔环肽染色 U-2 OS (人骨肉瘤细胞)微丝的效果。图中红色为罗丹明标记鬼笔环肽染色，蓝色为 DAPI 染色。染色实验在 96 孔板中进行，罗丹明标记鬼笔环肽稀释比例为 1:50，本图仅作参考，不同样品检测条件不同，实际获得的结果可能有所差别。

◆ 使用方法

1. 固定细胞或组织切片的荧光染色：

- 1) 用 PBS 洗涤细胞或组织切片 2 次。
- 2) 用 PBS 配制的 3.7% 甲醛溶液室温固定细胞或组织切片约 10-20 分钟。注意：甲醇可以破坏 actin，因此不能选用含有甲醇的固定液，并且尽量使用不含甲醇的甲醛。
- 3) 用含 0.1% Triton X-100 的 PBS 洗涤 2-4 次，每次 5 分钟。
- 4) 用含有 1-5% BSA 和 0.1% Triton X-100 的 PBS 按照 1:40-200 的比例稀释 Rhodamine Phalloidin, 例如 5 μ l Rhodamine Phalloidin 用 0.2mL 或 1mL 稀释液稀释，稀释后的溶液即为染色工作液。注：稀释比例可以根据实际染色效果进行适当调整。
- 5) 把染色工作液按照每个片子 200 μ l 的比例滴加到片子上，室温避光孵育 30-60 分钟。为防止蒸发，孵育时最好将片子置于载玻片染色盒中。注：对于培养于多孔板板中的细胞，染色方法可以参考组织切片的染色方法进行。
- 6) 用含 0.1% Triton X-100 的 PBS 洗涤 2-4 次，每次 5 分钟。
- 7) 随后可以直接用荧光显微镜进行观察。

2. 对于活细胞的荧光染色：

Phalloidin 通常不具有细胞通透性，因此极少用于活细胞染色。但也有报道活细胞可被标记，可能是通过细胞的吞噬作用进入了某些细胞。一般对于活细胞的染色需要更多的染料。

◆ 保存条件

-20℃ 避光保存，一年有效。

◆ 注意事项

为避免反复冻融，建议适当分装。

对于微量的液体，每次使用前先离心数秒钟，使液体充分沉降到管底。

荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。

鬼笔环肽有剧毒，使用时请做好防护措施。

本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。