



## 产品信息

货号	名称	Abs/Em (nm)	规格	体积
YP0114S	YF <sup>®</sup> 488-Phalloidin	490/515	50T	5 mL
YP0114L	YF <sup>®</sup> 488 标记鬼笔环肽 (绿色)		300T	30 mL
YP0115S	YF <sup>®</sup> 555-Phalloidin	555/565	50T	5 mL
YP0115L	YF <sup>®</sup> 555 标记鬼笔环肽 (橙红)		300T	30 mL
YP0116S	Rhodamine-Phalloidin	546/575	50T	5 mL
YP0116L	罗丹明标记鬼笔环肽 (橙红)		300T	30 mL
YP0118S	YF <sup>®</sup> 633-Phalloidin	630/650	50T	5 mL
YP0118L	YF <sup>®</sup> 633 标记鬼笔环肽 (远红)		300T	30 mL
YP0119S	YF <sup>®</sup> 680-Phalloidin	681/698	50T	5 mL
YP0119L	YF <sup>®</sup> 680 标记鬼笔环肽 (远红)		300T	30 mL

**储存条件:** 4°C避光可稳定保存 2 年, 具体批次有效期见外包装

**应用范围:** 细胞骨架染色

## 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, 可特异性结合于 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合力。

YF<sup>®</sup>染料是我司开发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。YF<sup>®</sup>荧光染料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合力, 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合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。鬼笔毒肽类 (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 Å, 分子量 < 2000 Daltons, 多种肌动蛋白结合蛋白,



UElancy Inc.

Tel:0512-88965152

Web:www.uelandy.com

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。

## 实验步骤

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冰冻组织切片，不推荐染色石蜡组织切片。

1. 用 PBS 清洗细胞 3 次。
2. 用含有 4%多聚甲醛的 PBS 溶液固定细胞，室温固定 20 min。

注：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多聚甲醛。

3. 用 PBS 清洗细胞 3 次。
4. (可选) 用含 0.4% Triton X-100 的 PBS 溶液在室温下透化细胞 10 min。

注：荧光鬼笔环肽的分子量 < 2000 Daltons，很容易通过细胞，可不经 Triton X-100 透化直接染色，但透化处理可以缩短染色时间，增加染色效率，建议染色前对细胞进行透化处理。

5. 用 PBS 清洗细胞 3 次。
6. 取 100  $\mu$ L 即用型荧光鬼笔环肽染液，加入一个盖玻片或孔中，使染液完全覆盖细胞，室温避光孵育 20-90 min。

注：荧光鬼笔环肽染色时间与具体的细胞类型、固定/样本制备条件和/或细胞/组织对探针的通透性密切相关。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. (可选) 取 100  $\mu$ L 浓度为 5  $\mu$ g/mL 的 DAPI 染液，加入一个盖玻片或孔中，使染液完全覆盖细胞，室温避光孵育 5 min。染色完成后，弃去 DAPI 染液，用 PBS 清洗细胞 2-3 次。

9. 荧光显微镜观察。

注：YF<sup>®</sup>染料标记的鬼笔环肽具有很好的光稳定，样品可以在 PBS 中成像，也可以使用抗荧光淬灭剂观察。

## 注意事项

1. 本染色液的浓度经过优化的，可以满足多种常用细胞（如 HeLa（人宫颈癌细胞），vero（非洲绿猴肾细胞），ST（猪睾丸细胞），C2C12（小鼠成肌细胞））的染色需要。如需调整使用浓度，请选择本司 YF<sup>®</sup>染料/罗丹明标记鬼笔环肽粉末，自行配置合适的工作液浓度。
2. 避免使用含有甲醇的固定剂，这些会破坏肌动蛋白的结构而影响鬼笔环肽染色效果。
3. 荧光鬼笔环肽的染色效果与具体的细胞类型、固定/样本制备条件和/或细胞/组织对探针的通透性密切相关。
4. 用含 1% BSA 的 PBS 预孵育固定细胞 20-30 min 可以改善染色效果。
5. 荧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。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。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。对于本染色液，室温孵育 1h 无法对活细胞染色。

