产品名称：Fluorescein 633-Phalloidin（荧光素 633 标记鬼笔环肽）

产品货号： RA20013

基本信息

中文名称	Fluorescein 633-Phalloidin（荧光素 633 标记鬼笔环肽）
英文名称	Fluorescein 633-Phalloidin
产品规格	50T、300T
存储条件	-20℃，避光保存
运输条件	低温
有效期	12 个月
激发/发射波长	630/650nm

产品介绍

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。

试剂制备

Fluorescein 633 标记的鬼笔环肽：取适量无菌水溶解管中冻干的粉末，制备成 200T/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）。

Fluorescein 633 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 Fluorescein 633 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。

实验步骤

固定细胞染色

产品名称：Fluorescein 633-Phalloidin（荧光素 633 标记鬼笔环肽）

产品货号： RA20013

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%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甲醛。

（3）用 PBS 清洗细胞 3 次。

（4）用含 0.4% 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 μL PBS 稀释 1-5 μL 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

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。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。

注意事项

1. 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。
2. 为避免反复冻融，可对本产品进行小量分装。

备注：该试剂仅供科研使用！