

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。它是特异性结合于 F-肌动蛋白 (F-Actin) 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-Actin 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。

CoraLite 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。CL 荧光标记的鬼笔环肽可在纳摩尔水平染色 F-Actin。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。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-Actin 进行定量研究。

标记物:

CoraLite® Plus 488 标记, 简称 CL488, 该染料和 FITC 等染料类似。

Ex/Em: 490/515 nm

包装规格

300T

保存条件

-20°C干燥、避光保存, 自收货之日起2年有效。若配制成水溶液, 应少量分装保存避免反复冻融。

使用方法

储液制备

取适量无菌水或甲醇溶解管中冻干的粉末, 制备成 200 T/mL 的储液 (300 T 规格染料加入 1.5 mL 的液体即可), 避光保存。CL 荧光标记鬼笔环肽一个单位 (T) 的定义是染色一个加载细胞的载玻片所用染料的量。对于荧光标记的鬼笔环肽, 使用时推荐稀释比例为 1:40-1:200, 一个单位相当于 200 uL 总染色体积中加入 1-5 uL 200 T/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)

固定细胞染色

1.用 PBS 清洗细胞 3 次。

2.用含有 4% 多聚甲醛的 PBS 溶液冰上固定细胞 15 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。

3.用 PBS 清洗细胞 3 次。

4.用含 0.2% Triton X-100 的 PBS 溶液在室温下透化细胞 5 min。

5.用 PBS 清洗细胞 3 次。

6.用 200 uL PBS 稀释 1-5 uL 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, 以覆盖样品为宜。孵育过程中为避免染液挥发, 可将盖玻片放于湿盒内。

7.用 PBS 清洗细胞 2-3 次。

8.荧光显微镜观察。为了效果最佳, 可以使用抗荧光淬灭剂观察。

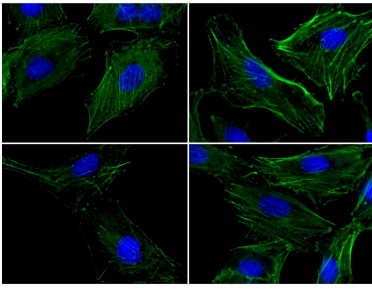
活细胞染色

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。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。

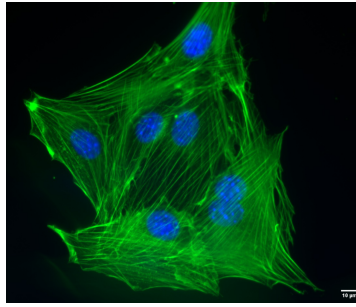
注意

本产品为冻干粉形式, 使用前请瞬时离心, 加适当溶剂溶解后使用。鬼笔环肽有剧毒, 请做好防护措施。

Validation Data



Immunofluorescent analysis of (4% PFA) fixed A549 cells using the CoraLite® Plus 488-conjugated Phalloidin antibody, CL488-Phalloidin, at dilution of 1:400. The nuclei were counterstained with DAPI.



CL488-Phalloidin staining in NIH3T3: NIH3T3 mouse fibroblasts. 1:50 dilution of CoraLite® Plus 488-Phalloidin. Nuclei are stained with Hoechst 33342. Scale bar is 10 μ m. Images taken by Katarzyna Szymanska-DeWijs from Hannover Medical School.

For technical support and original validation data for this product please contact

T: 027-87531629

E: Proteintech-CN@ptglab.com

W: ptgcn.com

This product is exclusively available under Proteintech Group brand and is not available to purchase from any other manufacturer.