

鬼笔环肽（红光）

货号：HKI0019R

【产品信息】

产品名称	产品货号	规格		有效期
鬼笔环肽（红光）	HKI0019R	100T	300T	一年
		100ul	300ul	

【产品简介】

鬼笔环肽（Phalloidin），又称鬼笔鹅膏素，最初是从毒蘑菇鬼笔鹅膏菌（*Amanita phalloides*）中分离到的一种双环肽，可以极高的亲和力和特异性与肌动蛋白丝 F-actin 结合，不会结合单体肌动蛋白（G-actin）。

鬼笔环肽对大小纤维的亲合力相近，在许多不同的动植物物种的肌肉和非肌肉细胞中，基本都按照一个肌动蛋白亚基与一个鬼笔环肽分子的化学计量比结合。不像肌动蛋白抗体，对不同物种或来源的肌动蛋白亲和力会发生明显变化。鬼笔环肽的非特异性结合几乎可以忽略，染色和未染色区域的差异非常明显。鬼笔环肽及其衍生物在纳摩尔浓度即可对 F-actin 染色，可以非常方便的标记、识别和定量研究 F-actin 的分布。

本产品为荧光染料 TRITC 标记的鬼笔环肽，以 20 μ M 储存液形式提供，溶剂为甲醇。常用浓度范围 80-200nM，每次染色使用 200 μ L 工作液即可。

【储存与运输】

冰袋（wet ice）运输，-20℃避光保存；有效期 12 个月。

【使用方法】

试剂准备：自备 1×PBS 缓冲液（pH 7.2-7.4），固定液（货号：HK2003），细胞通透剂（货号：HKI0048），抗荧光淬灭封片剂（货号：HKI0007），即用型 DAPI 染色液（货号：HKI0005）等。

工作液配制：用 1×PBS 将本产品稀释到需要的工作浓度，常用工作浓度为 80-200 nM。推荐使用 100nM，即每 1 μ L TRITC 标记鬼笔环肽与 199 μ L PBS 混匀。最佳染色工作浓度请参考文献或进行预实验摸索。鬼笔环肽染色工作液，现配现用，室温避光保存。

操作步骤

1. 培养好的细胞爬片（密度至少达到半汇合），去除培养液，用 37℃ 预热的 1×PBS 缓冲液清洗细胞 2 次。

2. 加入含 4% 甲醛的固定液覆盖细胞，室温固定 10 min。注意，甲醇能破坏肌动蛋白，因此固定液中不得含有甲醇，避免使用含甲醇的甲醛溶液。

3. 用 1×PBS 缓冲液清洗细胞 2-3 次，每次 30 s-1 min。

4. 用细胞通透剂覆盖细胞，室温透化细胞 5-10 min。

5. 用 1×PBS 缓冲液清洗细胞 2-3 次，每次 30 s-1 min。

6. 细胞爬片稍微甩干后，用组化笔画圈使细胞位于圈中央。取 200 μL 现配的 TRITC 标记鬼笔环肽染色工作液完全覆盖细胞，室温避光孵育 30 min。注意，通常情况下，4-37℃ 均适合染色。为避免染色工作液挥发导致干片，孵育过程需将细胞爬片置于密封容器内，例如避光湿盒。

7. 用 1×PBS 缓冲液清洗细胞 2-3 次，每次 30 s-1 min。

8. （可选做）向爬片上滴加即用型 DAPI 染色液覆盖细胞，进行细胞核染色 3-5 min。用 1×PBS 缓冲液清洗细胞 2-3 次，每次 30 s-1 min

9. 细胞爬片稍甩干后，倒置在滴加一滴抗荧光淬灭封片剂的载玻片上，用纸巾吸掉对于封片剂。

【可选步骤】：完成步骤 7 后，直接将盖玻片倒置在滴加含 DAPI 的抗荧光淬灭封片剂（货号：HK10007-2）的载玻片上，然后吸掉多余的封片剂。以荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察结果。

10. 荧光显微镜或激光共聚焦显微镜观察结果，选择 TRITC (Ex/Em=546/575 nm) 和 DAPI (Ex/Em=364/454nm) 通道。

【注意事项】

1. 荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽快完成检测及观察拍照。
2. 甲醇可以破坏 actin 蛋白，因此样本前期固定不能使用含有甲醇的固定液。
3. 鬼笔环肽通常不具有细胞通透性，极少用于活细胞染色。
4. 本产品溶剂为甲醇，极易挥发，每次用完以后需及时拧紧管盖密封保存。
5. 操作时请穿实验服，并佩戴一次性手套。