

Rhodamine Phalloidin{罗丹明标记鬼笔环肽}

货号: RM02835

规格: 0.25 ml

◆ 产品简介

鬼笔环肽是从担子类真菌死亡帽蘑菇 (deathcap mushroom) 鬼笔鹅膏 (Amanitaphalloides) 中分离出来的一种多肽, 可特异性地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, 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, 从而使微丝荧光探针广泛应用于生物、医学研究。本品为 Rhodamine 标记的鬼笔环肽, 可在纳摩尔水平上染色 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和力, 平均每个肌动蛋白亚基结合一个鬼笔环肽分子。此外, 不同于抗体, 鬼笔环肽与肌动蛋白的结合亲和力在不同物种间没有显著变化。染色和未染色区域之间的对比度十分显著, 非特异性染色可以忽略不计。

◆ 保存条件

冰袋运输。干粉-20℃保存, 有效期 60 个月。水溶液-20℃保存, 有效期 12 个月。

◆ 产品应用

细胞骨架染色 (适用于细胞样本、冰冻切片样本, 不适用于石蜡切片样本)

◆ 自备材料

无菌水, 4%多聚甲醛的 PBS 溶液, 0.3%Triton X-100 的 PBS 溶液, 1×PBS, DAPI 染色液

◆ 实验流程

1. 储存母液的配制

(1) 取出装有 Rhodamine Phalloidin 干粉的离心管, 8000 rpm, 4℃离心 5 min, 将干粉收集至管底 (本产品为冻干粉形式, 微量不易观察)。

(2) 加入 0.25 ml 的无菌水, 充分涡旋溶解 Rhodamine Phalloidin 干粉。

2. 细胞固定与染色 (以 24 孔板, 贴壁细胞为例)

(1) 每孔加入 400 μ l 的 PBS, 轻柔洗涤细胞 1 次。

(2) 吸弃 PBS 溶液, 每孔加入 400 μ l 的 4%多聚甲醛的 PBS 溶液, 室温静置固定 20 min。 (注: 甲醇在固定过程中会破坏肌动蛋白。因此, 避免含有任何甲醇的固定剂。优选不含甲醇的多聚甲醛进行固定)

- (3) 吸弃 4%多聚甲醛的 PBS 溶液, 每孔加入 400 μ l 的 PBS, 轻柔洗涤细胞 2 次。
- (4) 吸弃 PBS 溶液, 每孔加入 400 μ l 的 0.3%Triton X-100 的 PBS 溶液, 室温静置通透 10 min。
- (5) 吸弃 0.3%Triton X-100 的 PBS 溶液, 每孔加入 400 μ l 的 PBS, 轻柔洗涤细胞 2 次。
- (6) 使用 PBS 溶液, 按照 1:40-1:200 的比例稀释 Rhodamine Phalloidin 储存母液。每孔加入 300 μ l 的 Rhodamine Phalloidin 的染色工作液, 室温静置避光孵育 20 min。 (注: 稀释比例可以根据实际染色效果进行适当调整)
- (7) 吸弃 Rhodamine Phalloidin 染色工作液, 每孔加入 400 μ l 的 PBS, 轻柔洗涤细胞 2 次。
- (8) 吸弃 PBS 溶液, 加入 300 μ l 的 DAPI 染色工作液, 室温静置避光孵育 10-20 min。
- (9) 吸弃 DAPI 染色工作液, 每孔加入 400 μ l 的 PBS, 轻柔洗涤细胞 3 次。

注: 对于冰冻切片样本, 固定液、通透液及染色工作液每张切片的用量体积约为 50-100 μ l 左右, 实际使用以均匀覆盖整片组织样本为准。

3. 荧光成像

荧光显微成像: Rhodamine 标记鬼笔环肽的荧光的激发波长为 546 nm, 发射波长为 575 nm, 和 Alexa Fluor 555, Cy3, Tetramethylrhodamine 的检测通道比较接近。因此, 可以选取相对应的检测条件进行荧光图像的采集。

◆ 注意事项

1. 为了您的健康和安全, 操作时请穿实验服并佩戴一次性手套。
2. 为避免反复冻融, 水溶液配制后, -20°C 分装保存使用。
3. 本产品为冻干粉形式, 微量不易观察。使用前请先将干粉离心收集至管底, 加入无菌水溶解, 溶解后的溶液近乎透明色。
4. 甲醇会破坏肌动蛋白, 因此不能使用含有甲醇的固定液, 使用不含甲醇的多聚甲醛进行固定。
5. 石蜡切片在制备过程中的包埋试剂会对肌动蛋白造成破坏, 因此, 本产品不适用于石蜡切片样本的检测。