For Research Use Only

CoraLite® Plus 488标记鬼笔环肽

Catalog Number: PF00001



www.ptgcn.com

产品介绍

标记物:

包装规格保存条件

使用方法

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和力。

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和力,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和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。

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

Ex/Em: 490/515 nm

300T

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

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。

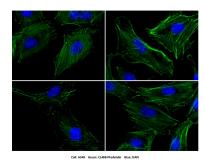
活细胞染色

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。

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。

注意

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 um. Images taken by Katarzyna Szymanksa-DeWijs from Hannover Medical School.