

YF®488/555/594/633/640/680/Rhodamine 标记鬼笔环肽

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，可特异性结合于 F-肌动蛋白的双环肽。因此用荧光染料标记的鬼笔环肽可以非常方便地研究 F-肌动蛋白的分布。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。

YF®染料是我司开发的系列新一代荧光染料，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。YF®荧光染料标记的鬼笔环肽可在纳摩尔水平染色 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。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。鬼笔环肽将单体/聚合物的平衡转向聚合状态，将聚合临界浓度降低至 30 倍。鬼笔毒肽类(Phallotoxins)可通过抑制细胞松弛素的解聚，碘化钾和升高的温度，稳定 F-肌动蛋白。因为鬼笔环肽缀合物很小，大约直径 12~15 Å，分子量<2000 Daltons，多种肌动蛋白结合蛋白，包括肌球蛋白，原肌球蛋白和后肌钙蛋白依然可以和鬼笔环肽标记的肌动蛋白结合。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-肌动蛋白进行定量研究。

应用范围

细胞骨架定位染色

产品信息

货号	名称	Abs/Em (nm)	规格
YP0059S	YF®488-Phalloidin	490/515	50 T
YP0059L	YF®488 标记鬼笔环肽 (绿色)		300 T
YP0060S	YF®555-Phalloidin	555/565	50 T
YP0060L	YF®555 标记鬼笔环肽 (橙红)		300 T
YP0052S	YF®594-Phalloidin	590/617	50 T
YP0052L	YF®594 标记鬼笔环肽 (红色)		300 T
YP0053S	YF®633-Phalloidin	630/650	50 T
YP0053L	YF®633 标记鬼笔环肽 (远红)		300 T
YP0123S	YF®640-Phalloidin	642/662	50 T
YP0123L	YF®640 标记鬼笔环肽 (远红)		300 T
YP0055S	YF®680-Phalloidin	681/698	50 T
YP0055L	YF®680 标记鬼笔环肽 (近红)		300 T
YP0063S	Rhodamine-Phalloidin 罗丹	546/575	50 T
YP0063L	明标记鬼笔环肽 (橙红)		300 T

储运条件

-20℃ 干燥避光保存，有效期见外包装；若配制成水溶液，应小量分装保存。冰袋运输。

产品特点

种类齐全：囊括从绿色荧光到近红外荧光，可供客户选择较多；

特异性好：特异性与细胞骨架 F-actin 结合；

批间差小：公司自研产品，批间差稳定；

稳定性强：YF®系列是我司自主研发，荧光亮度强且抗淬灭性好。

注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 本产品为冻干粉形式，微量不易观察，使用前请瞬时离心，加适当溶剂溶解后使用，溶解后的溶液近乎透明色。
- 若出现染色效果不佳，可以采用含1% BSA的PBS预孵育20~30 min，可改善染色效果。
- 本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

- 试剂
 - (1) PBS 缓冲液 (1×, pH~7.4)
 - (2) 0.4%Triton X-100 (PBS 配制)
 - (3) 1% BSA (PBS 配制) 和 0.1% BSA (PBS 配制)
 - (4) 4%多聚甲醛 (PBS 配制，一周内配制，现配现用)
 - (5) DAPI 染色液 (D4080)
 - (6) 免疫组化笔
 - (7) 抗荧光淬灭封片剂
 - (8) ddH₂O
 - (9) 甲醇
- 仪器
荧光显微镜

操作步骤

1. 储液制备

YF®染料/罗丹明标记的鬼笔环肽：取适量甲醇或无菌水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，50 T规格染料加入0.25 mL的液体即可）。

注：本产品为冻干粉形式，微量不易观察，使用前请瞬时离心。配制为储液可-20℃分装保存，避免反复冻融。

YF®染料/罗丹明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YF®染料/罗丹明标记的鬼笔环肽，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 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。

2. 固定细胞染色

以下方案是针对生长在96孔板的贴壁细胞的染色步骤，同样适用玻璃盖玻片或8孔室玻片上的贴壁细胞。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) 细胞准备：实验前一天铺细胞，铺板前用显微镜白光观察细胞状态有无异常，96孔板的每孔铺1.5-2x10⁴个Hela细胞（根据细胞类型调整），每孔细胞培养基(培养基+FBS+双抗) 100 μL。细胞培养箱过夜。
- (2) 细胞固定：取出培养箱中前一天铺好的细胞板，每孔加入100 μL左右的4%多聚甲醛溶液(一周内配制)，混匀，4℃放置30 min或室温放置20 min，吸去固定液，用1× PBS清洗细胞2次。

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) 通透：细胞每孔加100 μ L左右的配制于PBS中的0.4% TritonX-100溶液，混匀，室温通透20 min，吸去通透液，用1x PBS清洗细胞2次。

(4) 细胞染色：按照以下比例配制染色液(100 μ L 1x PBS加2.5 μ L荧光标记的鬼笔环肽储液)，加入一个孔中，室温孵育20 min，进行染色。完成后1xPBS清洗三次。

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色挥发，可将盖玻片放于密封容器内。

(5) DAPI核复染：每孔加入100 μ L DAPI染色工作液(5 μ g/mL)，37°C孵育5 min；完成后1x PBS清洗两次，清洗完成后加入50 μ L 1x PBS，防止细胞干掉。

(6) 荧光显微镜拍照：根据特定的激发发射选定激发光。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。

3. 冰冻组织切片染色

(1) 复温：冰冻切片室温复温15 min；

(2) 固定：将切片浸入4%多聚甲醛固定液中，室温固定15 min，将切片置于染色缸中，PBS洗涤切片3次，每次5 min，玻片置于染缸内，染缸置于摇床上轻摇；

(3) 透化：将切片浸入0.1%-0.3% Triton X-100 (PBS配制) 中，室温通透10-15 min，将切片置于染色缸中，PBS洗涤切片3次，每次5 min，玻片置于染缸内，染缸置于摇床上轻摇；

注：具体需要根据切片厚度确定最优化，最初建议0.1% Triton X-100孵育10 min染色，若染不上可加大时间或浓度。

(4) 封闭：1% BSA (PBS配制) 室温封闭30 min，吸去多余液体 (不清洗)；

(5) 染色：取一支鬼笔环肽染色 (50T) 按照说明书加甲醇溶解，制备成200 T/mL的储液，鬼笔环肽工作液使用0.1% BSA (PBS配制) 按1:100 (如1 μ L鬼笔环肽储液加入100 μ L) 稀释，滴加工作液覆盖组织，避光孵育40 min；

(6) 洗涤：0.1% BSA (PBS配制) 避光洗涤切片2次，每次5 min，再用PBS避光洗涤切片2次，每次5 min；

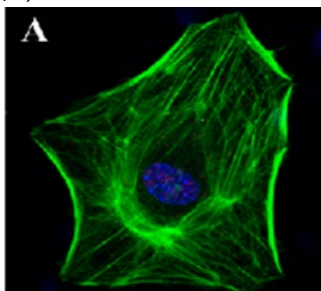
(7) 复染：滴加DAPI工作液，避光孵育10 min，PBS避光洗涤切片2次，每次5 min；

(8) 封片：甘油明胶封片液封片，荧光显微镜观察。

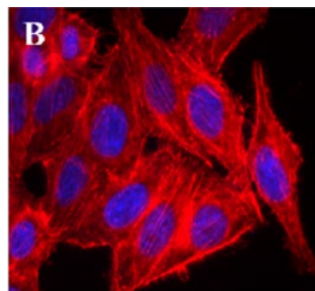
4. 活细胞染色

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。

5. 实验效果图 (图 1)



原代星形胶质细胞骨架染色(YF® 488-Phalloidin)



肝癌细胞骨架染色(YF® 555-Phalloidin)

图 1 鬼笔环肽染色效果图

FAQ

1. 问：为什么拿到的是空管？

答：本产品为冻干粉形式，微量不易观察，使用前请瞬时离心，加适当溶剂溶解后使用。

2. 问：鬼笔环肽染色细胞骨架过程中，能使用甲醇固定细胞吗？

答：甲醇会破坏Actin蛋白，因此不能使用含有甲醇的固定液，并且使用不含甲醇的甲醛。

3. 问：本产品是否可以用于染色石蜡切片？

答：不可以。有石蜡切片中的包埋试剂会对肌动蛋白F-actin造成破坏，会出现染色不上情况。

同系列产品

产品货号	产品名称	选购指南
YP0114	YF® 488-Phalloidin YF® 488 标记鬼笔环肽 (绿色，即用型)	即用型；方便快捷
YP0115	YF® 555-Phalloidin YF® 555 标记鬼笔环肽 (橙红，即用型)	即用型；方便快捷
YP0116	Rhodamine-Phalloidin 罗丹明标记鬼笔环肽 (橙红，即用型)	即用型；方便快捷
YP0118	YF® 633-Phalloidin YF® 633 标记鬼笔环肽 (远红，即用型)	即用型；方便快捷
YP0119	YF® 680-Phalloidin YF® 680 标记鬼笔环肽 (近红，即用型)	即用型；方便快捷
YP0054	Tubulin-Tracker Red (抗体法微管红色荧光探针)	微管染色
YP0061	Tubulin-Tracker Green (抗体法微管绿色荧光探针)	微管染色

相关产品

产品货号	产品名称
D4054	DAPI (4',6'-二脒基-2-苯基吡啶二盐酸盐)
D4080	DAPI 染色液 (即用型)
H4047	Hoechst 33342 DNA 染料
H4079	Hoechst 33342 染色液 (即用型)
H4046	Hoechst 33258 DNA 染料
H4078	Hoechst 33258 染色液 (即用型)