



Version 1911

本产品仅作科研用途!

F-actin 染色试剂盒 (鬼笔环肽-橙红)

F-actin Staining Kit (Orange)

货号与规格:

AMJ-KT0004-50T

AMJ-KT0004-200T

AMJ-KT0004-500T

背景介绍:

肌动蛋白是一种大约 42 kDa 的蛋白质, 几乎在所有真核细胞中都有发现。它也是最高度保守的蛋白质之一, 肌动蛋白的单体为球形分子, 称为球形肌动蛋白 G-actin, 它的多聚体称为纤维形肌动蛋白 F-actin。这两者对于细胞分裂过程中细胞的移动和收缩等重要的细胞功能都是必不可少的。

鬼笔环肽 (Phalloidin) 是一种来源于毒蕈类鬼笔鹅膏 (*Amanita phalloides*) 的环状七肽毒素, 是一种强烈毒素, 以特异性结合于丝状肌动蛋白 F-actin, 而不会与单体肌动蛋白 G-actin 结合, 通常用来标记组织切片、细胞培养物或无细胞体系中的 F-actin, 从而对 F-actin 进行定性和定量分析。

产品组分:

货号	名称	规格型号			保存条件
		50T	200T	500T	
AMJ-KT0004-A	鬼笔环肽 (橙红荧光) (200×) Phalloidin(Orange Fluorescence)(200×)	25ul	100ul	250ul	-20°C, 避光
AMJ-KT0004-B	实验缓冲液 (5×) AssayBuffer(5×)	1ml	4ml	10ml	4°C

工作原理:

F-actin 染色试剂盒 (鬼笔环肽-橙红), 使用了橙色荧光染料 (Ex/Em=593 nm/614 nm) 偶联的鬼笔环肽, 可以特异性地结合 F-actins, 与其它的荧光素-鬼笔环肽衍生物相比, 具有更卓越的光稳定性。使用 nM 浓度的鬼笔环肽衍生物, 即可便捷地标记, 鉴定, 定量 F-actins, 适用于甲醛固定与透化处理的组织切片、细胞培养物或无细胞实验。

产品介绍：

产品类型	细胞示踪
检测方法	荧光显微镜，橙色荧光 (Ex/Em=593 nm/614 nm)
运输	冰袋运输
保存	请参阅说明书中各个组分的存储条件。 自发货之日起，在推荐温度下至少稳定 6 个月。
其它	不适用于活细胞染色

* 注意事项

- 1) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 2) 鬼笔环肽具有强烈毒性，需小心操作。
- 3) 为了避免交叉污染，请在样品添加之间和试剂添加之间更换移液器吸头。另外，每种试剂应使用单独的容器。
- 4) 开始测定之前，请确保所有试剂和溶液均处于适当的温度下。

需客户自行准备：

- 移液器和吸头
- 荧光显微镜
- 96 孔细胞培养板
- 磷酸盐缓冲液 (PBS)
- 固定液：4%多聚甲醛（溶于 PBS 缓冲液）
- 0.1% Triton X-100 溶液（溶于 PBS 缓冲液）
- DAPI 溶液（染核，复染）

产品特点：

- 优化的实验方案，特别适用于甲醛固定与透化处理的组织切片、细胞培养物或无细胞实验中的 F-actins 标记，鉴定以及定量需求。
- 专利的鬼笔环肽染料 (橙色荧光) (Ex/Em = 593/614 nm)，特异性地结合 F-actins，且兼具比其它荧光素-鬼笔环肽偶联物更强的光稳定性。

使用方法：

*[Note] 由于不同细胞类型的最佳染色条件可能不同，我们建议您根据实验确定自己最佳的浓度。

一. 试剂准备：

- A. 鬼笔环肽 (橙红荧光) (200×) [Phalloidin(Orange Fluorescence)(200×)]：使用前先温热至室温。分装并储存未使用的鬼笔环肽 (橙红荧光) (200×) 储液于-20℃。避光并避免重复的冻融循环。

- B. **实验缓冲液 (5×) [AssayBuffer(5×)]**: 用 ddH₂O 稀释 5x 实验缓冲液, 至 1x 实验缓冲液 (工作液)。
使用前预热到 37C。
- C. **染色工作液**: 每 1 ml 的实验缓冲液 (1X) 中, 加入 5ul 鬼笔环肽 (橙红荧光) (200x), 混合均匀 (适用于 10 个样品孔, 每孔 100ul)。如有大量样品, 请成比例的扩大染色工作液配置。

二. 染色步骤:

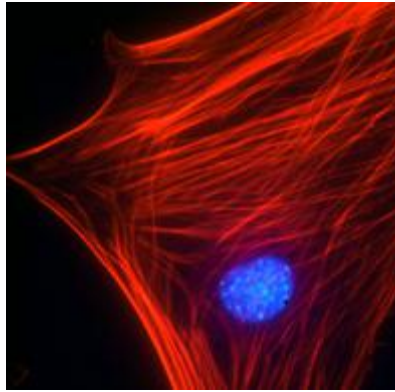
1. 细胞培养过夜或更长, 使其密度达到 50-60%汇合度。
2. 用 PBS 在 pH 7.4 (PBS) 中洗涤细胞两次。
3. 用冰冷的 4% 甲醛溶液 (PBS) 固定细胞, 在冰上进行 15-30 min。

*[Note]在固定过程中, 甲醇会损坏肌动蛋白。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。

4. 用 PBS 清洗细胞 2~3 次, 每次 10 min。
5. 用溶于 PBS 的 0.1% Triton X-100 溶液透化处理, 室温 10 min, 从而增加其通透性。
6. 用 PBS 清洗细胞 3 次, 每次 10 min。
7. 每个孔 (96 孔板) 加入 100 ul 含鬼笔环肽的**染色工作液**, 在室温下将细胞染色 30 分钟。
8. 用 PBS 清洗细胞 2 次, 每次 5 min。
9. **【可选】**加入即用型 DAPI 溶液对细胞核进行复染, 如: 100 ul/孔, 室温 3~5 min。用 PBS 清洗细胞 2 次, 每次 5 min。
10. 在荧光显微镜下观察细胞。橙红荧光染料标记的鬼笔环肽具有良好的光稳定性, 并且可以在 PBS 中对样品成像, 但是为了获得最佳效果, 可以使用抗荧光淬灭剂对其进行观察。

*[Note] 染料标记的鬼笔环肽不具有细胞渗透性, 因此未广泛用于活细胞标记物。但是, 据报道活细胞可能以胞饮作用或未知机制为特征。通常, 将橙红荧光染料标记的鬼笔环肽注射到细胞中, 以监测肌动蛋白

的分布和细胞运动。



(Hela 细胞：红色为该试剂盒染 F-actin；蓝色为 DAPI 染核)

相关产品：

货号	名称	规格
AMJ-AB1001	β -actin 单克隆抗体(AJ01)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-AB1002	GAPDH 单克隆抗体(1B4)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-AB1003	β -Tubulin 单克隆抗体(2B5)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-AB1004	植物 Actin 单克隆抗体(2G2)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-AB1005	Flag 标签单克隆抗体(2B9)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-AB1006	HA 标签单克隆抗体(3F5)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-AB1007	His 标签单克隆抗体(4C2)	30ul, 100ul, 1ml
AMJ-CH0001	预染蛋白分子量 Marker (10-180 kDa)	100ul, 250ul, 250ul*10
AMJ-CH0002	蛋白酶抑制剂套装 (100X)	1ml, 1ml*2, 1ml*5
AMJ-KT0002	WB 超敏 ECL 底物试剂盒	50ml, 200ml, 1L
AMJ-KT0003	F-actini 染色试剂盒 (鬼笔环肽-绿色)	50T, 200T, 500T
AMJ-KT0004	F-actini 染色试剂盒 (鬼笔环肽-橙红)	50T, 200T, 500T
AMJ-KT0006	核蛋白与胞浆蛋白提取试剂盒	50T, 200T
AMJ-KT0007	总蛋白提取试剂盒	50T, 200T
AMJ-KT0008	BCA 蛋白质定量试剂盒 (兼容 SDS)	500T, 2000T, 5000T
AMJ-KT0009	Bradford 蛋白质定量试剂盒 (兼容 DTT)	500T, 2000T, 5000T