

# 细胞骨架红色荧光探针 ActinRed

说明书修订日期: 2018.11.22

Cat number: KGMP0012

Store at -20°C for 6 months, 避光

For Research Use Only (科研专用)

## 一、产品描述

ActinRed (罗丹明鬼笔环肽) 是 F-肌动蛋白的高亲和力探针, 由蘑菇毒素制成, 与橙色荧光染料四甲基罗丹明 (TRITC) 偶联。以纳米摩尔浓度使用时, 鬼笔毒素是方便的探针, 可用于对甲醛固定和打孔的组织切片、细胞培养物或无细胞实验体系中的 F-肌动蛋白进行标记、鉴别和定量。

Ex/Em: 540nm/565nm, 比抗体染色更优越。最适合于固定和通透的样本。

荧光标记的鬼笔环肽与肌动蛋白对于不同的物种, 包括植物和动物具有几乎相同的高结合属性。鬼笔环肽结合具有高选择性, 而 F-肌动蛋白红色荧光。呈现出很少的非特异性染色。本产品可以用于荧光显微镜、微孔板、比色皿和流式细胞仪。

## 二、产品包装

组 份	Cat: KGMP0012	储存条件
细胞骨架红色荧光探针 ActinRed	200U/mL, 200 $\mu$ L	-20°C, 避光

## 三、操作说明

### 染色操作

本实验操作不特定针对某一特别的实验体系, 但是具有很大的普遍适用性。以下操作以贴壁细胞爬片为例。

### 甲醛固定细胞的染色操作

- 1.1 以预温的 PBS, pH7.4, 洗涤细胞两次。
- 1.2 3.7%(由PBS配制)甲醛固定细胞, 室温 10 分钟。注意: 甲醇可能导致肌动蛋白扭曲变形, 因此最好避免选用任何含有甲醇类的固定剂。
- 1.3 PBS 洗涤两遍。
- 1.4 使用- 20 °C 的丙酮洗涤盖玻片或者含 0.1% Triton X-100 的 PBS 洗涤 3~5 分钟。
- 1.5 PBS 洗涤细胞爬片两遍。
- 1.6 用含1%BSA 的PBS预孵育固定的细胞爬片, 室温20-30min, 以减少非特异性背景。
- 1.7 取5  $\mu$ L罗丹明鬼笔环肽储液加入200 $\mu$ L含1% BSA的PBS中配制成染色液, 将染色液 (一般是100ul) 均匀覆盖细胞爬片, 室温静置染色20min。可以加上封盖, 防止水分蒸发。
- 1.8 PBS 洗涤两遍。
- 1.9 观察细胞爬片样品。如若长期保存, 细胞应在空气中晾干, 加盖在一个永久封固封片剂。避光 2-6°C, 以这种方式制备的试样保持至少 6 个月的肌动蛋白染色。

### 同时进行固定、促渗和罗丹明鬼笔环肽染色步骤

罗丹明鬼笔环肽在 4%的多聚甲醛固定缓冲液中稳定时间较短, 需要快速的固定、透化和标记。

- 2.1 制备 1mL 含有 50~100 $\mu$ g/mL 的 1-十六酰-sn-丙三醇-磷酸胆碱和 3.7%的甲醛的PBS溶液, 然后添加 5~10units 的罗丹明鬼笔环肽。
- 2.2 染色液没过细胞, 4 度孵育 20 分钟。
- 2.3 缓冲液快速洗涤三次。
- 2.4 封片观察。