

细胞骨架蓝色荧光探针

说明书修订日期: 2018.11.22

Cat number: KGMP0013

Store at -20°C for 6 months, 避光

For Research Use Only (科研专用)

一、产品描述

本染料是 F-肌动蛋白的高亲和力探针, 由蘑菇毒素制成, 与蓝色荧光染料偶联。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: 350 nm/450 nm, 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-肌动蛋白蓝色荧光。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。

二、产品包装

组 份	Cat: KGMP0013	储存条件
细胞骨架蓝色荧光探针	200U/mL, 200 μ 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。

注: 针对贴壁细胞或 96 微孔板样本, 每个样建议 100 μ L 的染色工作液体积, 本试剂盒约可操作 80 tests。

甲醛固定细胞

- 1 以预温的 PBS, pH7.4, 洗涤细胞两次。
- 2 3.7%甲醛 (用PBS配置) 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。
- 3 PBS 洗涤两遍。
- 4 丙酮-20 °C 洗涤细胞或者含 0.1% Triton X-100 的 PBS 洗涤 3~5 分钟, 以增加渗透性。
- 5 PBS 洗涤两遍。
- 6 (选做) 在染色之前, 也可以选择用 1%BSA 的 PBS 预孵育固定的细胞20-30min, 以减少非特异性背景。
- 7 取5 μ L 荧光探针原储液加入 200 μ L 的 含1%BSA的PBS 中预染色每张细胞爬片。
- 8 选择合适的染色液体积, 建议 100 μ L, 室温浸泡爬片 20 分钟, 可以加上封盖, 防止水分蒸发。
- 9 PBS 洗涤两遍。
- 10 使用DAPI通道观察即可。如需长期保存, 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

该荧光探针在 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。

- 1 制备 1mL 含有 50~100 μ 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 的荧光探针。
- 2 染色液没过细胞, 4 度孵育 20 分钟。
- 3 缓冲液快速洗涤三次。
- 4 封片观察。

染色结果

