

重组霍乱毒素 B 亚基 (CF594 标记, 红色荧光)

Recombinant Cholera Toxin B subunit, CF594-conjugated

产品编号	产品名称	包装规格
NBS6725-100ug	重组霍乱毒素 B 亚基 (CF594 标记, 红色荧光)	100ug

产品简介:

霍乱毒素 (Cholera toxin, CTX) 是霍乱弧菌产生的毒力因子, 会引起严重腹泻以及人体脱水。CTX 属于 AB5 亚基家族。天然六聚体蛋白含两个亚基, 分子量约 85kDa。由一个 A 亚基 (约 27.2kDa) 和五个 B 亚基 (约 11.6kDa/亚基) 组成, B 亚基以五聚体环的方式排列, 呈明显的五度对称, 负责毒素识别并吸附细胞表面的神经节苷脂 GM1。

A 亚基催化刺激性 G 蛋白 α 亚基 ($G\alpha_s$) 的 ADP 核糖基化, 降低 GTPase 活性和活化 α 亚基。 $G\alpha_s$ 的活化引起腺苷酸环化酶 (AC) 活性增加, 进而促使 cAMP 水平提高。A 亚基还能 ADP 核糖基化视杆细胞外节膜盘的转运蛋白, 使得 GTPase 失活。霍乱毒素还是一种高效的黏膜疫苗佐剂, 通过抑制 IL-12 生产来诱导 2 型辅助性 T 细胞的免疫应答。

霍乱毒素 B 亚基 (CTB) 对细胞无毒, 本质上不含腺苷酸环化酶活性。CTB 通过结合神经节苷脂 GM1 附着到细胞上, 是小胶质细胞的良好标记物 (这类细胞表面富含神经节苷脂 GM1), 但不适合标记少突胶质细胞或星形胶质细胞。CTB 是利用组化方法研究轴突运输的优秀示踪剂。CTB 也是常用的脂筏标记物, 脂筏是富含胆固醇和鞘脂的膜微区, 在细胞信号转导和蛋白质运输中发挥重要作用。

本品是偶联上红色荧光素-CF594 (Ex/Em=593/614nm) 的重组霍乱毒素 B 亚基 (rCTB), 即 Recombinant Cholera Toxin B subunit, CF594-conjugated, 简写: CF594 conjugated- rCTB, 适用于神经学研究中的束路追踪, 靶向神经节苷脂 GM1) 结合和逆行运输。也可在活细胞或固定细胞成像中用作脂筏标记物和内吞示踪剂。

保存条件:

-20°C 保存, 至少 6 个月有效。

产品使用:

以下是用荧光标记的 rCTB 对细胞进行标记的实验流程。对于其他的应用 (比如: 神经示踪), 请根据应用查找相应的文献作为参考。

一、自行准备材料

- 1.1 磷酸盐缓冲液 (PBS) (比如: NBS3021-500ml)
- 1.2 牛血清白蛋白 (BSA) (比如: NBS0218-25g)
- 1.3 HBSS (比如: NBS4100-500ml)
- 1.4 4%多聚甲醛 (比如: NBS0135-500ml)
- 1.5 **【可选】** Hoehcst 33342 (比如: Hoechst 33342 货号: NBS8032-10mg, Hoechst 33342 染色液(即用型), 10ug/ml 货号: NBS8033-10ml)

二、染料准备

重溶: 将低温保存的 CF594 conjugated- rCTB (规格: 100 μ g) 置于室温回温至少 30min, 低速离心 3-5min, 将粉末离心至管底。直接往瓶子加入 100 μ l 无菌水或 1 $\times$ PBS 使其充分溶解, 即得到 1mg/ml 的母液。

保存: 新鲜制备的 CF594 conjugated- rCTB (1mg/ml) 置于+4 $^{\circ}$ C避光保存, 3 个月稳定。亦可根据单次用量分装后, 置于-20 $^{\circ}$ C避光保存, 6 个月稳定, 避免反复冻融。

三、活细胞的表面标记

- 3.1 用 4 $^{\circ}$ C预冷的 HBSS+0.5% BSA 清洗细胞一次;
- 3.2 用 4 $^{\circ}$ C预冷的 HBSS+0.5% BSA 稀释 CF594 conjugated- rCTB (1mg/ml) 到工作浓度: 400ng/ml-1 μ g/ml。
- 3.3 吸走细胞内的缓冲液, 加入新鲜配置的 CF594 conjugated- rCTB 染色工作液。+4 $^{\circ}$ C避光孵育 30min。
- 3.4 用 4 $^{\circ}$ C预冷的 HBSS+0.5% BSA 清洗细胞三次;
- 3.5 用 4%多聚甲醛固定细胞, +4 $^{\circ}$ C避光固定 15min。
- 3.6 用 PBS 清洗细胞二次, 之后进行成像或接着做后续的染色。【注: 根据实验需求, 考虑是否加入核复染剂-Hoechst 33342 等】

注意事项:

1. 本品以冻干粉形式提供, 由于量比较少, 初次使用前需置于室温回温至少 30min, 低速离心后, 再开盖直接往瓶内加入合适的溶剂进行溶解。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

附录 I 几款 CF 染料的光谱特征:

	<u>CF488A</u>	<u>CF568</u>	<u>CF594</u>	<u>CF647</u>	<u>CF680R</u>
最大 Abs/Em	490/515 nm	562/584 nm	593/614 nm	650/665 nm	680/701 nm

摩尔吸光系数	70,000	100,000	115,000	240,000	140,000
分子量	~914	~714	~730	~836	~912
激发激光线	488nm	532 or 568 nm	561 to 568 nm	633 or 635 nm	680 or 685 nm
应用	荧光显微镜 共聚焦显微镜 流式细胞仪 超分辨率成像 (STED、TIRF)	共聚焦显微镜 单分子成像 超分辨率成像 (SIM, TIRF, STED, 多色 STORM)	荧光显微镜 共聚焦显微镜 流式细胞仪	荧光显微镜 共聚焦显微镜 流式细胞仪 超分辨率成像 (多色 STORM)	小动物成像仪 超分辨率成像 (多色 STORM、3D)

相关产品:

产品编号	产品名称	包装规格
NBS6719-500ug	<u>Cholera Toxin from Vibrio Cholerae 霍乱毒素</u>	500ug
<u>NBS6720-1ml</u>	<u>霍乱毒素溶液 (50ug/ml)</u>	1ml
<u>NBS6721-500ug</u>	<u>Cholera Toxin B subunit 霍乱毒素 B 亚基</u>	500ug
<u>NBS6722-100ug</u>	<u>霍乱毒素 B 亚基溶液 (大肠杆菌重组表达)</u>	100ug
<u>NBS6723-100ug</u>	<u>重组霍乱毒素 B 亚基 (CF488A 标记, 绿色荧光)</u>	100ug
<u>NBS6724-100ug</u>	<u>重组霍乱毒素 B 亚基 (CF568 标记, 红色荧光)</u>	100ug
<u>NBS6725-100ug</u>	<u>重组霍乱毒素 B 亚基 (CF594 标记, 红色荧光)</u>	100ug
<u>NBS6726-100ug</u>	<u>重组霍乱毒素 B 亚基 (CF647 标记, 深红色荧光)</u>	100ug
<u>NBS6727-100ug</u>	<u>重组霍乱毒素 B 亚基 (CF680R 标记, 近红外荧光)</u>	100ug