



# FITC-MAL I (Maackia Amurensis Lectin I Fluorescein)

## FITC-MAL I; 荧光素标记怀槐凝集素(MAL I)

### 产品简介

FITC-MAL I; 荧光素标记怀槐凝集素(MAL I) Maackia Amurensis Lectin I (MAL I), Fluorescein 是广泛应用于细胞生物学的凝集素之一。MAL I 识别的糖类受体是核心靶点 Gal $\beta$ 1-4GlcNAc (N - 乙酰乳糖胺, LacNAc), 倾向与含  $\alpha$ 2-3 唾液酸的 N - 连接糖链 (Sia $\alpha$ 2-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc) 结合。不结合半乳糖 6 位 $\alpha$ 2-6 唾液酸修饰、无唾液酸 LacNAc、O -连接糖链, 200 mM 乳糖 (Lactose) 可完全抑制结合。是糖生物学与免疫荧光研究的经典探针之一。

FITC-MAL I; 荧光素标记怀槐凝集素(MAL I)通常用来标记糖蛋白, 用于活细胞或固定细胞的质膜成像, 用于组织切片染色或其它标准的免疫分析实验。

### 主要应用场景

**免疫荧光 (IF)** : 细胞 / 组织切片中定位  $\alpha$ 2-3 唾液酸化 N - 糖链 (如肿瘤、炎症标志物)

**流式细胞术 (FCM)** : 分析细胞表面唾液酸化糖蛋白表达

**糖印迹 (Glyco-blot)** : 检测电泳分离的糖蛋白 / 糖脂

**细胞分选**: 标记并分离 $\alpha$ 2-3 唾液酸阳性细胞亚群

本品是 FITC 标记的怀槐凝集素 (FITC labeled Maackia Amurensis Lectin I, MAL I), Ex/Em=495/515nm (绿色荧光), 亲和纯化所得, 基本不含未标记的荧光素。建议工作浓度范围是 5-20 $\mu$ g/ml。

### 产品组成

名称	编号	FS0595	FS0595	Storage
FITC-MAL I (FITC Maackia Amurensis Lectin I) FITC 标记怀槐凝集素		1mg	2mg	2-8 $^{\circ}$ C 避光
使用说明书			1 份	

**保存及运输**: -2-8 $^{\circ}$ C 避光保存, 至少 1 年有效。 运输: 冰袋运输。

### 产品特性

- 1) 英文同义名: Maackia Amurensis Lectin I (MAL I), FITC Conjugate; Fluorescein labeled Maackia Amurensis Lectin I (MAL I); FITC-MAL I; FITC-MAL I;
- 2) 中文同义名: 怀槐凝集素, FITC 标记怀槐凝集素; FITC 标记的山槐凝集素 I; 荧光素标记的山槐凝集素 I;
- 3) 糖类特异性: 含  $\alpha$ 2-3 唾液酸的 N - 连接糖链 (Sia $\alpha$ 2-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc)
- 4) 外观: 溶液 (溶于 10 mM HEPES, 0.15 M NaCl, pH 7.5, containing 0.1 mM Ca $^{2+}$ , 0.08% sodium azide)
- 5) 蛋白浓度: 2mg/ml
- 6) Ex/Em: 495/515nm
- 7) 荧光颜色: 绿色
- 8) 应用: IF、FCM、糖生物学



## 使用方法

**质膜标记操作流程:** 细胞中定位  $\alpha$ 2-3 唾液酸化 N-糖链 (如肿瘤、炎症标志物)

### 一、标记活的真核细胞

以下是对贴壁培养在盖玻片上的活细胞的通用染色步骤。以下步骤使用 HBSS (含钙镁, 无酚红) 溶液对哺乳动物细胞进行优化染色。根据不同的模型系统和预期效果来优化染色时间和浓度。

**1.1 制备染色工作液:** 用 HBSS (含钙镁, 无酚红) 稀释 FITC-MAL I (2mg/ml) 到工作浓度, 常用工作浓度范围为 5-20 $\mu$ g/ml。使用细胞培养基稀释 MAL I 偶联物用于标记可能导致增高的非细胞染色背景。

**1.2 细胞标记:** 加入足量的染色工作液完全覆盖盖玻片上的细胞。37 $^{\circ}$ C 孵育 10min。

**1.3 细胞清洗:** 标记结束后, 吸走染色工作液, 用合适的缓冲液清洗细胞 2 次。除非细胞要做固定, 此时即可在预热的 HBSS 或其它适合于成像的缓冲液中封片。

**1.4 【可选】细胞固定:** 可能用 4%多聚甲醛固定染色好的细胞, 37 $^{\circ}$ C 15min, 之后用缓冲液清洗, 以及做另一种复染。如有必要用 0.2% Triton X-100 透化细胞。【注】4% 多聚甲醛固定 10-15 min 即可, 避免固定过度, 破坏糖链表位。

### 二、标记固定的真核细胞

以下是对贴壁培养、甲醛固定且未做透化处理细胞的通用染色步骤。根据不同的模型系统和预期效果来优化染色时间和浓度。

**2.1 细胞固定:** 4%多聚甲醛固定细胞, 37 $^{\circ}$ C 处理 15min。

**2.2 细胞清洗:** 用 HBSS (含钙镁, 无酚红) 清洗细胞三次。不要透化细胞。

**2.3 准备染色工作液:** 用 HBSS (含钙镁, 无酚红) 稀释 FITC-MAL I (2mg/ml) 到工作浓度, 常用工作浓度范围为 5-20 $\mu$ g/ml。使用细胞培养基稀释 MAL I 偶联物用于标记可能导致增高的非细胞染色背景。

**2.4 细胞标记:** 加入足量的染色工作液完全覆盖盖玻片上的细胞。室温孵育 10min。

**2.5 细胞清洗:** 标记结束后, 吸走染色工作液, 用合适的缓冲液清洗细胞 2 次。此时可能用 0.2% Triton X-100 或其它表面活性剂透化细胞, 进行接下来的复染或抗体标记。

**2.6 细胞成像:** 按照实验需求用另一复染剂染色, 之后在缓冲液内封片或抗荧光淬灭剂来封片。

### 三、组织水平糖基化分布、病理组织 (肿瘤 / 炎症) 糖链标志物检测

#### 针对冰冻切片 (推荐, 糖链保存更佳)

3.1 切片室温复温 15 min, TBST-Ca<sup>2+</sup> 洗 3 $\times$ 3 min;

3.2 用 4%多聚甲醛固定 10 min, 洗涤;

3.3 封闭液室温封闭 40 min;

3.4 滴加 15 $\mu$ g/mL FITC-MAL I, 室温避光孵育 1 h;

3.5 对照切片: 替换为「乳糖抑制工作液」;

3.6 充分洗涤、DAPI 染核、封片、镜检。

#### 针对石蜡切片

需常规脱蜡至水, 抗原修复禁用高温高压 (糖链易降解), 推荐室温酶修复; 后续封闭、凝集素孵育步骤同冰冻切片。

### 四、流式细胞术 (定量细胞表面 $\alpha$ 2-3 唾液酸 N-糖链)

适用场景: 细胞群糖基化水平定量分析、细胞亚群分群、药物处理前后表达差异统计

4.1 细胞收集消化 / 离心收集悬浮细胞, 预冷 PBS 洗涤, 调整细胞浓度至 (1 $\times$ 10<sup>6</sup>) 个/mL。



**【注】消化液避免含高浓度 EDTA。**

4.2 重悬与封闭取 100 $\mu$ L 细胞悬液，加入等体积封闭液，室温封闭 20 min。

**标记（避光）分组设置：**

**实验组：**加入 FITC-MAL I，终浓度 10 $\mu$ g/mL，室温避光孵育 30 min；

**阴性对照 1（乳糖阻断）：**凝集素 + 200 mM 乳糖；

**阴性对照 2（空白细胞）：**不加凝集素，仅缓冲液。

4.3 洗涤预冷 TBST-Ca<sup>2+</sup> 离心洗涤 2 次，去除游离荧光探针。

4.4 上机检测重悬细胞，流式细胞仪检测 FITC 通道，分析平均荧光强度 (MFI)。

## 五、凝集素印迹 (Lectin Blot, 检测蛋白糖基化)

适用场景：蛋白样本中 $\alpha$ 2-3 唾液酸化 N-糖蛋白鉴定、Western blot 联合糖基化分析

5.1 蛋白样品经 SDS-PAGE 电泳，转膜至 NC/PVDF 膜；

5.2 转膜完成后，TBST-Ca<sup>2+</sup> 洗膜 3 $\times$ 5 min；

5.3 封闭：5% BSA-TBST-Ca<sup>2+</sup> 室温封闭 1 h；

5.4 孵育探针：加入 15 $\mu$ g/mL FITC-MAL I，室温避光摇床孵育 1.5 h；

5.5 对照膜条：使用含 200 mM 乳糖的凝集素工作液孵育；

5.6 TBST-Ca<sup>2+</sup> 充分洗膜 4~5 次；

5.7 荧光成像系统扫描，采集 FITC 荧光信号。

补充：后续可联用（印迹条带可再进行常规抗体孵育，实现蛋白 + 糖基化双重检测）。

## 六、必设对照体系（实验数据可信核心）

**乳糖抑制对照（金标准）：**200 mM 乳糖预处理 / 共孵育，MAL I 特异性结合应完全消失；

**空白对照：**不加 MAL I，仅缓冲液，排除自发荧光；

**MAL II 平行对照：**区分  $\alpha$ 2-3 唾液酸 N-糖链 / O-糖链；

**钙离子缺失对照：**缓冲液替换为含 EDTA 的 TBST，验证结合的钙依赖性。

## 七、常见问题排查与优化

### 无荧光信号

原因：缓冲液含 EDTA/EGTA、Ca<sup>2+</sup> 缺失、固定过度、凝集素失效；

优化：更换标准 TBST-Ca<sup>2+</sup>，缩短固定时间，重新分装凝集素。

### 背景荧光极高

原因：封闭不充分、洗涤次数不足、凝集素浓度过高；

优化：延长封闭时间、增加洗涤次数、降低 MAL I 浓度至 5  $\mu$ g/mL。

### 荧光快速淬灭

优化：全程避光，使用抗淬灭封片剂，镜检缩短曝光时间。

### 非特异性结合多

优化：严格设置乳糖阻断对照，提高 Tween-20 浓度至 0.1%。

## 注意事项

1) 本品置于 2-8 $^{\circ}$ C 长期保存可能会产生沉淀，建议使用前请 37 $^{\circ}$ C 温育数分钟，之后离心吸取上清使用，能够有效降低非特异性的背景染色。此操作基本不会对产生性能造成负影响。

2) 4% 多聚甲醛固定 10-15 min 即可，避免固定过度，破坏糖链表位

3) 切勿使用 EDTA/EGTA 等螯合剂，会螯合 Ca<sup>2+</sup> 导致结合完全失效。



4) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 相关产品

货号	名称	规格
FS1109	FITC-UEA-I (FITC labeled Ulex Europaeus Agglutinin I) FITC 标记荆豆凝集素 I	100µg
FS1366	FITC-PNA (FITC labeled Peanut Agglutinin) FITC 标记花生凝集素	1mg
FS1367	Rhodamine-PNA (Rhodamine labeled Peanut Agglutinin) 罗丹明标记花生凝集素	1mg
FS0530	FITC-Con A (FITC labeled Concanavalin A) FITC 标记刀豆蛋白 A	5mg
FS0532	Rhodamine-Con A (Rhodamine labeled Concanavalin A) 罗丹明标记刀豆蛋白 A	1mg
FS0524	FITC-Phytohemagglutinin-L (PHA-L) FITC 标记植物血凝素-L (菜豆)	2mg
FS0525	Rhodamine-Phytohemagglutinin-L (PHA-L) 罗丹明标记植物血凝素-L (菜豆)	2mg
FS0540	RHODAMINE-WGA (Rhodamine labeled Wheat Germ Agglutinin) 罗丹明标记麦胚凝集素	1mg
FS0541	Alexa Fluor 488-WGA (Rhodamine labeled Wheat Germ Agglutinin) Alexa Fluor 488 标记麦胚凝集素	1mg
FS0542	Alexa Fluor 594-WGA (Rhodamine labeled Wheat Germ Agglutinin) Alexa Fluor 594 标记麦胚凝集素	1mg
FS0582	Alexa Fluor 488 labeled Concanavalin A Alexa Fluor 488 标记刀豆蛋白 A	1mg
FS0583	Alexa Fluor 594 labeled Concanavalin A Alexa Fluor 594 标记刀豆蛋白 A	1mg
FS0584	Biotin-Phytohemagglutinin-L(PHA-L)生物素标记植物血凝素-L (菜豆)	2mg
FS0585	FITC 标记豌豆凝集素 (FITC-PSA, PNA)	1mg
FS0586	TRITC 标记豌豆凝集素 (TRITC-PSA, PNA)	1mg
FS0587	Alexa Fluor 488 标记豌豆凝集素 (Alexa Fluor 488-PSA, PNA)	1mg
FS0588	Alexa Fluor 555 标记豌豆凝集素 (Alexa Fluor 555-PSA, PNA)	1mg
FS0589	Alexa Fluor 594 标记豌豆凝集素 (Alexa Fluor 594-PSA, PNA)	1mg
FS0590	FITC 标记大豆凝集素 (FITC-SBA)	1mg
FS0591	TRITC 标记大豆凝集素 (TRITC-SBA)	1mg
FS0592	Biotin-Soybean(SBA)生物素标记大豆凝集素(Biotin-SBA)	2mg
FS0593	Alexa Fluor 488 Phytohemagglutinin-L(PHA-L) Alexa Fluor 488 标记植物血凝素-L (菜豆)	1mg
FS0594	Alexa Fluor 594 Phytohemagglutinin-L(PHA-L) Alexa Fluor 594 标记植物血凝素-L (菜豆)	1mg
FS0595	FITC-MAL I; 荧光素标记怀槐凝集素(MAL I) FITC Maackia Amurensis Lectin I	1mg