



Cholera Toxin B subunit-AF647

霍乱毒素 B 亚基-AF647 标记远红色荧光

产品简介

霍乱毒素 B 亚单位(Cholera Toxin Subunit B, 简称 CTB)是霍乱肠毒素的重要组成部分,而霍乱肠毒素是霍乱弧菌分泌的主要致病因子。天然霍乱毒素采用 AB5 毒素结构模式,由一个具有酶活性的 A 亚单位和五个相同的 B 亚单位非共价结合形成的环状五聚体。该产品为重组形式,通过基因工程技术单独表达 B 亚单位,完全不含具有毒性的 A 亚单位,既保证了实验安全性,又不影响其功能特性。

CTB 的核心功能机制在于其能够特异性识别和结合细胞膜上的 GM1 神经节苷脂(monosialotetrahexosylganglioside)。GM1 神经节苷脂是一种广泛分布于真核细胞膜上的糖鞘脂,特别在神经元胞体、树突以及上皮细胞表面富集。CTB 与 GM1 的结合具有高度亲和力和特异性,这种结合特性是其多种应用场景的分子基础。CTB 可以在不引起细胞毒性反应的前提下,利用 CTB 的膜结合能力进行多种研究。

产品应用: 神经元逆行示踪剂、免疫佐剂、标记细胞膜上的脂筏

CTB 是公认的强效黏膜免疫佐剂。其作用机制在于: CTB 结合黏膜上皮细胞表面的 GM1 后,能够促进共价或非共价偶联的抗原被上皮免疫细胞(如 M 细胞、树突状细胞)摄取和呈递,同时诱导黏膜局部产生 IL-4、IL-10 等 Th2 型细胞因子,从而显著增强黏膜 IgA 抗体应答和系统性体液免疫。基于此特性,CTB 已被广泛应用于口服、鼻腔或舌下途径的疫苗递送研究,能够有效提高抗原的免疫原性,且安全性优于完整的霍乱毒素(CT)。

起初 CTB 作为非荧光示踪剂被应用于逆行示踪技术中,荧光结合形式 CTB 的出现让其逐渐转变为一种常用的荧光示踪剂,本品为 AF647-CTB(#FS1491)是用 Alexa Fluor 647-标记的,Ex/Em=654/674nm,亲和纯化所得 CTB 产品。此外,我们还可以定制 FITC/AF488/AF594/AF647 等小分子荧光素标记的 CTB。

产品组成

名称	FS1491	FS1491	Storage
Cholera Toxin B subunit 霍乱毒素 B 亚基 AF647 标记远红色荧光	100ug	500ug	-20℃
使用说明书	1 份		

产品特性

中文名称:AF647 标记的霍乱毒素 B 亚基;Alexa Fluor 647 标记的霍乱毒素 B 亚基; 霍乱毒素 B 亚基-AF647; 霍乱毒素 B 亚基-AF647;

英文名称:CHOLERA TOXIN B SUBUNIT-AF647; CTB-AF647; Cholera Toxin B subunit-AF647; CTxB-AF647; Choleragenoid-AF647

分子量: 11.8kDa(还原)

形式: 重组型

外观: 液体

叠氮化钠: 未添加



内毒素: $<0.2\text{EU}/\mu\text{g}$

纯度: 经 SDS-PAGE 和 RP-HPLC 检测, 纯度 $>95\%$

蛋白浓度: $1\text{mg}/\text{ml}$

Ex/Em: 654/674nm

荧光颜色: 远红色

储存及运输条件: -20°C 储存, 有效期 1 年。 $2-8^{\circ}\text{C}$ 保存, 有效期 1 周。避免反复冻融。

使用方法

一、脂筏标记

细胞膜脂筏的标记可以直接使用 CTB-AF647 (#FS1491, $1\text{mg}/\text{mL}$) 进行标记, 方法如下:

以下方案适用于对 1 个 2mL 体系、浓度为 1×10^6 个/ mL 的悬浮活细胞样本进行标记。对于在 $18\text{mm}\times 18\text{mm}$ 盖玻片上生长至亚汇合度 ($70\%-80\%$) 的贴壁细胞, 也可使用相同体积的试剂进行标记。若需标记多个样本, 可按比例扩大试剂用量; 若孵育体积小于 2mL , 可按比例减少试剂用量。

1.1、细胞洗涤: 将细胞离心, 用预冷的 $1\times \text{PBS}$ (PH7.4) 轻轻重悬细胞沉淀。

1.2、CTB 孵育条件

浓度优化: CTB-AF647 (#FS1491, $1\text{mg}/\text{mL}$) 推荐工作浓度 $5-10\mu\text{g}/\text{mL}$ (不同细胞类型最适浓度有差异, 需预实验确定, 过高浓度增加背景), 工作液可用无菌 $1\times \text{PBS}$ 稀释 (PH7.4)。

孵育时间与温度: 4°C 孵育 30 分钟 (减少内吞作用, 保持膜表面 GM1 标记)。若需标记内化 GM1, 可改为 37°C 孵育 15-30 分钟。孵育结束后, 用预冷的 $1\times \text{PBS}$ (PH7.4) 轻轻洗涤细胞数次。

避光操作: CTB-AF594 对光敏感, 全程避光。

1.3、封片与观察标记细胞

若细胞无需醛类固定以进行长期储存, 也无需固定后用去污剂透化以进行后续标记步骤, 则可直接进行此步骤; 否则跳过此步骤, 继续进行步骤 3.4。将细胞置于预冷的 $1\times \text{PBS}$ (PH7.4) 中封片, 使用合适的滤光片组通过荧光显微镜观察细胞。

1.4、固定 (可选): 将细胞置于含 4% 甲醛的预冷 $1\times \text{PBS}$ (PH7.4) 中, 在 4°C 条件下固定 15 分钟, 避免醛类过度交联破坏脂筏结构。甲醇/丙酮等有机溶剂固定会溶解脂筏, 不可使用。若细胞无需去污剂透化, 可直接进行步骤 3.6。

洗涤: 固定后用 $1\times \text{PBS}$ (PH7.4) 轻柔洗涤 3 次, 防止脂筏破坏。

1.5、透化细胞 (可选): 脂筏的标记不建议透化处理, 如实验中无法避免透化, 可尝试将固定后的细胞置于含 0.1% Saponin 的 $1\times \text{PBS}$ (PH7.4) 中, 在室温下透化 10 分钟。透化结束后, 用 $1\times \text{PBS}$ 洗涤细胞 1 次。

1.6、封片与观察固定后的细胞: 使用适宜的封片剂 (如 #FSM0032) 对固定后的细胞 (或固定并透化后的细胞) 进行封片, 然后使用合适的滤光片组通过荧光显微镜观察细胞。

注意事项

- 1) 荧光染料都存在淬灭问题, 操作或保存过程中尽量避光, 减缓荧光淬灭。
- 2) 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

产品货号	产品名称	规格
FS1487	Cholera Toxin B subunit 霍乱毒素 B 亚基	500ug
FS1488	Cholera Toxin B subunit-FITC 霍乱毒素 B 亚基-FITC 标记绿色荧光	100ug
FS1489	Cholera Toxin B subunit-AF488 霍乱毒素 B 亚基-AF488 标记绿色荧光	100ug
FS1490	Cholera Toxin B subunit-AF594 霍乱毒素 B 亚基-AF594 标记橙红色荧光	100ug
FS1491	Cholera Toxin B subunit-AF647 霍乱毒素 B 亚基-AF647 标记远红色荧光	100ug
FSH055	1×PBS 细胞培养级 (PH7.4)	500ml
FSM0032	抗荧光淬灭封片剂	5ml

