

微丝染色液(R250 法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

细胞骨架一般是指真核细胞胞质中纵横交错的纤维网，根据纤维直径、组成成分和组装结构的不同分为微管、微丝和中间纤维。观察细胞骨架的方法有电镜、组织化学、酶标记、免疫荧光等。微丝(microfilament)是由肌动蛋白构成的纤维，微丝在不同种类的细胞中与某些结合蛋白一起形成不同的亚细胞结构(如肌肉细丝、肠上皮微绒毛轴心、应力纤维等)。

微丝染色液(R250 法)主要利用考马斯亮蓝 R250 显示由微丝构成的应力纤维，考马斯亮蓝 R250 可以对多种蛋白染色，并非特异染微丝，在该方法条件下，由于微管结构不稳定，有些类型的纤维太细，光学显微镜下无法辨认，因此能够看到的纤维主要是由微丝构成的应力纤维，直径约 40nm，由于细胞对培养基质的附着和维持扁平铺展的形状，该纤维在体外培养的贴壁细胞中尤其发达。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
微丝染色液(R250 法)	5×20ml/5×50ml	4℃ 避光	1 份	1 年
试剂(A): PBS Buffer(10×)	20ml/50ml	4℃ 避光	1 份	1 年
试剂(B): TM Buffer	20ml/50ml	4℃ 避光	1 份	1 年
试剂(C): M Buffer(3×)	20ml/50ml	4℃ 避光	1 份	1 年
试剂(D): Microfilament Fluid	20ml/50ml	4℃ 避光	1 份	1 年
试剂(E): R250 Stain	20ml/50ml	RT	1 份	1 年

操作步骤(仅供参考)：

(一)动物细胞微丝

- 1、取材：在盖玻片上细胞培养，生长密度达 60~70%时细胞面朝上置于称量瓶中，用去离子水稀释 PBS Buffer(10×)至 1×，用 1×PBS Buffer 清洗 1min，重复 1 次。
- 2、抽提：弃 PBS Buffer，加入 2ml TM Buffer，盖上称量瓶盖，37℃处理 25~30min。
- 3、漂洗：弃 TM Buffer，用去离子水稀释 M Buffer(3×)至 1×，用 1×M Buffer 清洗 2min，重复 2 次。
- 4、固定：稍微晾干，加入 2ml Microfilament Fluid 固定细胞 15~20min。
- 5、冲洗：弃 Microfilament Fluid，用 1×PBS Buffer 轻轻清洗 2min，重复 1 次。
- 6、染色：弃 PBS buffer，把盖玻片立于吸水滤纸上吸去边缘水分，加入 2ml R250 Stain 染色 20~25min。

7、去离子水冲洗染液，滤纸吸干水分，晾干，镜检或树脂封片。

(二)植物细胞微丝

1、取材：用去离子水稀释 PBS Buffer(10×)至 1×，轻轻撕取约 1cm² 洋葱鳞茎内皮，置于预先加入 1×PBS Buffer 的称量瓶中，孵育 5~10min，使其下沉。

2、抽提：弃 PBS Buffer，加入 2ml TM Buffer，盖上称量瓶盖，37℃处理 30min。

3、漂洗：弃 TM Buffer，用去离子水稀释 M Buffer(3×)至 1×，用 1×M Buffer 清洗 3~5min，重复 2 次。

4、固定：稍微晾干，加入 2ml Microfilament Fluid 固定细胞 20~25min。

5、冲洗：弃 Microfilament Fluid，用 1×PBS Buffer 清洗 3~5min，重复 2 次。

6、染色：弃 PBS Buffer，把盖玻片立于吸水滤纸上吸去边缘水分，加入 2ml R250 Stain 染色 20~25min。

7、去离子水冲洗染液，标本铺在载玻片上，加盖玻片，镜检。

染色结果 光学显微镜下可见动物细胞轮廓，应力纤维呈深蓝色，形态长而直，常与细胞的长轴平行并贯穿细胞全长。洋葱表皮细胞轮廓清晰，微丝束呈深蓝色，高倍镜下，转到微调，可见细胞骨架的立体结构。

注意事项：

1、抽提、固定、染色应在加盖的称量瓶中进行，并且盖玻片的细胞面始终朝上。

2、沿称量瓶内壁缓慢加入各种试剂，避免直接滴到玻片或样本上；清洗细胞动作应轻柔，避免细胞脱落。

3、抽提时间应自行摸索，时间过长易破坏细胞结构，时间过短易出现高背景。

4、应力纤维是一种动态结构，细胞充分贴壁时纤维挺拔、丰富；反之，细胞收缩变圆，应力纤维弯曲甚至部分解聚消失而显得稀少。

5、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：

D-Hanks 平衡盐溶液(1×,含酚红)
DEPC 处理水(0.1%)
DAPI 染色液(5ug/ml)
Acr-Bis(30%, 29:1)
ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)