

## 微丝染色液(R250 法)

### Microfilament dye (R250 method)

货号： S0058

规格： 5×20ml / 5×50ml

#### 保存条件：

4℃避光保存，有效期 12 个月。

#### 简介：

微丝染色液 (R25 法) 主要显示由微丝构成的应力纤维，由于细胞对细胞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。考马斯亮蓝 R250 染色微丝并非特异性的，因为 R250 可以对多种蛋白质染色。因此能够看到的纤维主要是由微丝组成的应力纤维。

本产品仅用于科研领域，不用于临床诊断。

#### 组成：

名称 \ 规格	5×20ml	5×50ml	Storage
S0058 (A): PBS buffer (10×)	20ml	50ml	RT
1×PBS buffer: 用去离子水 10 倍稀释 PBS buffer (10×)。			
试剂(B): TM buffer	20ml	50ml	RT
S0058 (C): M buffer (3×)	20ml	50ml	RT
1×M buffer: 去离子水 3 倍稀释 M buffer (3×)。			
S0058 (D): Microfilament fluid	20ml	50ml	4℃ 避光
S0058 (E): R250 staining solution	20ml	50ml	RT

#### 使用说明：

##### (一) 动物细胞微丝

- 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 1×PBS buffer 清洗 1min，重复 1 次。
- 抽提：弃 PBS buffer，加入 2ml TM buffer，盖上称量瓶盖，37℃处理 25~30min。
- 漂洗：弃 TM buffer，用 1×M buffer 清洗 2min，重复 2 次。
- 固定：稍微晾干，加入 2ml Microfilament fluid，固定细胞 15~20min。
- 冲洗：弃 Microfilament fluid，用 1×PBS buffer 轻轻清洗 2min，重复 1 次。
- 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 staining solution，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. 轻轻撕取约  $1\text{cm}^2$  洋葱鳞茎内皮，置于预先加入  $1\times\text{PBS}$  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， $37^\circ\text{C}$  处理 30min。
3. 漂洗：弃 TM buffer，用  $1\times\text{M}$  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  $1\times\text{M}$  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 staining solution，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：

动物细胞应力纤维：深蓝色

植物细胞应力纤维：深蓝色

### 注意事项：

1. 动物细胞微丝染色时，向称量瓶中加入试剂应缓慢，避免直接滴到玻片或样本上。
2. 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. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。