# 产品简介：

**微丝染色液(R250 法)**

细胞骨架一般是指真核细胞胞质中纵横交错的纤维网，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。生产的微丝染色液

在染色过程中由于微观结构不稳定，有些纤维在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组成的应力纤维。本试剂仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

# 产品组成：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | 5×20ml | 5×50ml |  |
| 试剂(A): PBS buffer(10×) | 20ml | 50ml | RT |
| 试剂(B): TM buffer | 20ml | 50ml | RT |
| 试剂(C): M buffer(3×) | 20ml | 50ml | RT |
| 试剂(D): Microfilament fluid | 20ml | 50ml | 4℃ 避 光 |
| 试剂(E): R250 staining solution | 20ml | 50ml | RT |

**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，盖上称量瓶盖子，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 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、取材：用去离子水稀释 PBS buffer(10×)至 1×。轻轻撕取约 1cm 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。

2、抽提：弃 PBS buffer，加入 2ml TM buffer，盖上称量瓶盖子，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×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：

动物细胞应力纤维植物细胞应力纤维

深蓝色深蓝色

# 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；清洗细胞动作应轻柔，避免细胞脱落。

2、动物细胞微丝染色时，抽提、固定、染色应在加盖的称量瓶中进行，加入试剂应缓慢， 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、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：** 12 个月有效。