

免疫荧光(IF)染色报告

1. 实验材料描述

1.1 主要试剂

试剂名称	试剂来源	cat.No
PBS	IMMOCELL	MC-401
4%多聚甲醛	ANTIHELA	—
透膜剂(0.2% Triton X-100 , 0.2% BSA in PBS)	ANTIHELA	—
封闭液(0.02% Triton X-100, 5% BSA in PBS)	ANTIHELA	—
PBST	ANTIHELA	—
Anti-glutamine synthetase	客户提供	—
Goat anti-Rabbit IgG H&L(Alexa Fluor® 488)	Abcam	ab150077
DAPI	Beyotime	P0131
90%的甘油	ANTIHELA	—
指甲油	ANTIHELA	—

1.2 主要仪器及耗材

仪器名称	仪器来源	cat. No.
24 孔板	NEST	801006
24 孔板圆形细胞爬片	卧宏生物	WHB-24-CS
荧光显微镜	MOTIC	AE31E
实验室真空吸液器	IMMOCELL	—
移液器	大龙公司	—

2. 实验步骤:

a. 细胞爬片:

将培养的 RMC-1 大鼠视网膜 muller 细胞消化重悬成单个细胞, 适当密度铺入放置爬片的 24 孔板, 过夜, 待细胞完全贴牢后继续以下实验。

b. 细胞染色:

- (1) 吸去培养液, 用 PBS 洗 1-2 遍。
- (2) 固定: 4%多聚甲醛室温处理 20 min, 吸去并用 PBS 洗涤 5 min ×3 次。
- (3) 透膜: 透膜剂 4℃处理 15 min, 吸去并用 PBS 洗涤 5 min ×3 次。
- (4) 封闭: 封闭液室温封闭 2 h。
- (5) 孵育一抗: 根据说明书, 用封闭液稀释一抗 Anti-glutamine synthetase, 4℃反应过夜。对照只加封闭液。

- (6) 用 PBST 洗涤 5 min ×3 次。
 - (7) 孵育二抗：根据说明书，用封闭液例稀释二抗，室温反应 30 min。对照亦加入相应的二抗。
 - (8) 用 PBST 洗涤 5 min ×3 次。
 - (9) 染核：用 DAPI 室温下染色 10 min。
 - (10) 用 PBST 洗涤 5 min ×3 次 (含淬灭剂的可不洗)。
 - (11) 盖玻片晾干，用 90%的甘油封片，指甲油封闭四周。注意甘油的量一定不能太多，否则会使信号浮动。
- c. 拍照观察。

3. 实验结果:

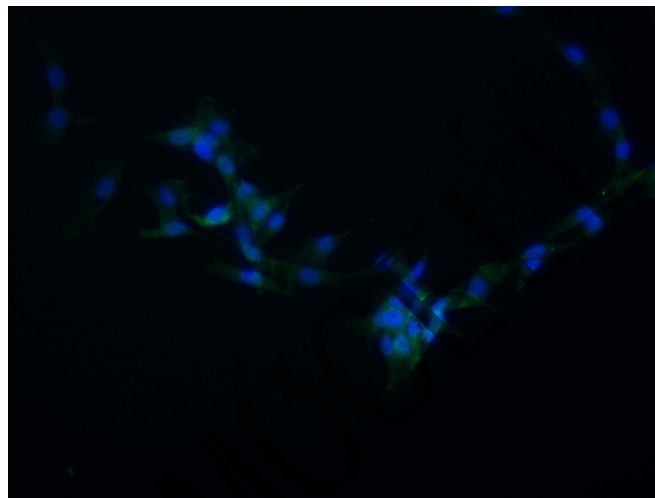


图 1 IF 鉴定 glutamine synthetase 表达

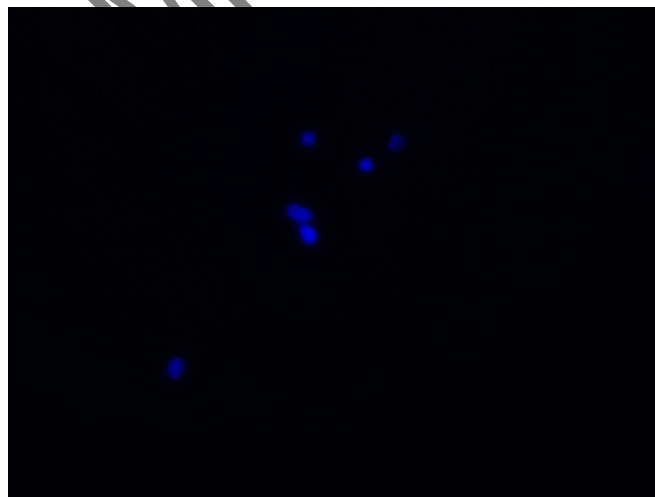


图 2 对照

4. 实验结论:

RMC-1 大鼠视网膜 muller 细胞表达 glutamine synthetase。