

# 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	ANTIHELTA	—
透膜剂(0.2% Triton X-100 , 0.2% BSA in PBS)	ANTIHELTA	—
封闭液(0.02% Triton X-100, 5% BSA in PBS)	ANTIHELTA	—
PBST	ANTIHELTA	—
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	ANTIHELTA	—
指甲油	ANTIHELTA	—

### 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) 一抗: 用封闭液按照合适的比例稀释一抗, 4℃ 反应过夜。

- (6) 用 PBST 洗涤 5 min ×3 次。
  - (7) 二抗：用封闭液按照合适的比例稀释二抗，室温反应 30 min。
  - (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：

