

细胞膨胀显微试剂盒(≥8倍)

Cell Expansion Microscopy Kit (≥8-fold linear expansion)

本产品需冰袋运输；保存于 4℃, 保质期 12 个月。其中试剂 A 与稀释液混合后需保存于 -20℃, 保质期 3 个月。

货号规格

货号	规格
ZX103	25次*
ZX103L	25次 × 5*

* 9 mm细胞爬片。

产品内容

组分名称	ZX103	ZX103L
ExMPro试剂A	2支	2支 × 5
试剂A稀释液	2.5 mL	2.5 mL × 5
ExM试剂B (100×)	25 μL	25 μL × 5
ExM试剂C (100×)	25 μL	25 μL × 5
制胶模具(需要重复使用)*	2个	2个×5
封板膜**	30片	30片×5

* φ10mm孔板和φ15mm孔板各一个；

** 实验通常设计实验组和对照组，同时利用模具至少两个胶孔制胶，使用两片封板膜即可。

产品特点

- 还原本真** — 3D 均匀膨胀, 不改变生物分子的空间分布；
- 前沿科技** — 利用膨胀显微技术, 轻松获得超高分辨图像；
- 物美价廉** — 用普通试剂的成本获得超高分辨的图像。

产品概述

膨胀显微成像技术(expansion microscopy, ExM)是一种新型超高分辨成像技术。该技术借助可膨胀水凝胶均匀地放大生物样本, 在常规光学宽场条件下轻松实现高分辨成像, 在普通共聚焦条件下实现超高分辨成像。蛋白质、核酸、脂质等生物大分子均可借助 ExM 进行超高分辨成像。本产品经过系统优化和验证, 适用于细胞爬片免疫荧光实验, 可将样本在三维方向均匀地放大 8 倍以上, 相应的空间分辨率也能提高 8 倍以上。由于空间的均匀拉伸, 膨胀后, 生物分子的空间分布关系不受影响。

自备材料

细胞爬片、倒置荧光显微镜。

注意事项

- 实验过程中建议使用商品化纯净水(如娃哈哈纯净水), 以免实验用水质量不达标, 影响样本膨胀效果；
- 本产品不适合活细胞成像实验；
- 本产品针对细胞爬片设计, 不可用于组织切片的处理；

4. 由于体积的膨胀,样本的单位荧光强度会降低。在进行免疫荧光实验时,建议将荧光抗体的稀释浓度提高 5~10 倍使用。具体操作如下:
- 直接提高荧光二抗的使用浓度(建议使用雅酶荧光二抗,货号:LF107~LF110)。例如,原本 1:1,000 使用荧光二抗,此时可以提高至 1:100~200。如果提高荧光二抗浓度后结果仍不理想,也可以适当提高一抗浓度。
- 调整后得到的免疫荧光结果,在最大激发光强度下,目镜观察会感觉非常明亮甚至刺眼,即可进行后续细胞膨胀操作。
5. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作;
6. 本产品仅限科研使用。

使用说明

配制**溶液 A**: 吸取 1.22 mL **试剂 A 稀释液**,加入一支**试剂 A**中,涡旋振荡混匀约 1 min,使**试剂 A**全部溶解,溶液透亮即可(溶液微微泛黄是正常现象)。配制所得的**溶液 A**建议在标签上做好标记,以便与粉末**试剂 A**区分,并保存于 -20℃(不会发生冻结),推荐分装使用。

按免疫荧光实验流程操作,获得经荧光染色的细胞爬片,并确保可以观察到荧光信号后,利用本试剂盒完成下述过程。

- 特别注意: ① 需将原荧光抗体浓度提高 5~10倍 使用,详见注意事项 4;
- ② 以下操作步骤以 9 mm 细胞爬片为例,如使用其它规格细胞爬片,可根据情况调整各试剂用量,并使用合适的制胶模具。

1. 配胶: 将**溶液 A**、**试剂 B**和**试剂 C**按照下表比例混合配制成**胶溶液**,以 9 mm 细胞爬片为例,推荐使用φ10mm 孔板**制胶模具**,一般配制 100 μL 胶溶液即可完全覆盖单孔细胞样本;

反应体系

组分	体积
溶液 A	98 μL
试剂 B	1 μL
试剂 C	1 μL

注意: 若使用 14 mm 爬片,需要用到φ15 mm 孔板制胶模具时,一般配制 240 μL 胶溶液即可完全覆盖单孔细胞样本。

2. 灌胶: 准备两张**封板膜**,将其中一张**封板膜**(撕去保护膜)贴在φ10 mm 孔板**制胶模具**底部,把细胞爬片(有细胞的一面朝上)放入胶孔内,灌入步骤 1 中混合均匀的**胶溶液**,并覆盖上另一张**封板膜**(撕去保护膜),使胶孔形成封闭空间,此过程需避免产生气泡,最后将灌完胶的模具室温避光孵育 45 min,确保胶完全凝固;
3. 拆胶: 小心地移除**封板膜**,将凝胶从制胶模具中取出,可以看到细胞已附着在凝胶的表面;
注意: 凝胶会有些干粘,可以加少量纯净水润湿,以便顺利取下。
4. 膨胀: 将凝胶样本置于约 200 mL 纯净水中(需确保容器洁净且宽敞),避光 4℃过夜膨胀;
5. 成像: 倒掉容器中剩余的水分,小心取出膨胀后的凝胶样本,用纯净水配制 DAPI 染液(1 μg/mL),复染凝胶样本 2 min,接着用纯净水漂洗 2~3 次(3~5 min/ 次)去除多余的 DAPI 染料。小心地取出凝胶样本,裁成合适的尺寸,请将**凝胶有细胞的一面朝下(有爬片凹痕的那一面)**,置于玻底培养皿中或载玻片上,**无需封片**,直接选择合适的**倒置荧光显微镜**进行观察或拍照,其间注意添加少量纯净水,使样本保持湿润。

- 注意: ① 根据物镜镜头使用相匹配的耗材进行成像,比如在油镜下观察或拍照需使用玻底皿,空气镜需使用载玻片;观察或拍照过程中,避免凝胶样本被高强度且长时间激光照射;
- ② DAPI 在凝胶膨胀过程中会与核酸脱离,因此需要复染 DAPI,用于定位视野,快速调到合适的焦距。注意避光操作,且切勿使用 PBS 配制 DAPI 染液,否则会发生缩胶;
- ③ 使用普通宽场显微镜拍摄,采集图像时会遇到同一视野下不同区域清晰度不一的情况,模糊的区域是未对焦造成的。样本经 3D 均匀拉伸后,厚度变大,需要在不同焦距下拍摄多张图片,再对这些图片进行投影融合处理即可,或使用景深扩展功能进行拍摄;
- ④ 若需凝胶线性膨胀倍数在 3.5~5.5 倍之间,推荐使用不同稀释倍数的 PBS 进行膨胀(可用纯净水稀释 1×PBS 配制),参见下表:

膨胀用液	0.5×PBS	0.3×PBS	0.1×PBS	纯净水
凝胶膨胀倍数	3.5倍	4.5倍	5.5倍	8~10倍

可能的问题及对策

实验阶段	问题	可能原因	解决办法
样本准备	细胞脱落或贴壁不佳	悬浮细胞未固定好	离心 / 甩片固定细胞于爬片, 37°C 烘干
		烘干后湿润保存	烘干后需干燥保存, PBS 润洗即用
	膨胀效果差, 结构未放大	细胞有细胞壁 (植物 / 细菌)	消化去除细胞壁, 获得原生质体后再使用
	细胞太少, 视野稀疏	细胞数量不足, 覆盖率低于 70%	增大细胞接种密度, 确保覆盖率达 70% 左右
	荧光信号弱或无信号	抗体浓度偏低	参照注意事项 4 操作
灌胶与凝固	胶中有气泡	封片操作不当	向模具孔中灌入胶溶液后, 从一侧缓慢放下封板膜以排出气泡
		胶液体积不足	灌胶时, 按照说明书要求的体积, 配制并灌入足量的胶溶液
	胶漏液	封板膜未贴紧	灌胶前检查模具底部封板膜是否已经贴紧, 灌胶后, 贴模具顶部封板膜时应从一侧开始缓慢贴下以排出气泡, 确保贴紧
	胶不凝固, 呈液态	凝胶时长不足	按照说明书指定时长等待胶彻底凝固
		配制比例不对	按照说明书推荐比例进行配制
		使用的耗材不洁净	使用洁净的耗材
膨胀	胶在水中发生碎裂	胶未彻底凝固	按照说明书指定时长等待胶彻底凝固
	胶膨胀倍数不足 (厚度不均)	膨胀时长不足	按照说明书指定时长等待胶膨胀充分
		实验用水质量不达标	实验过程中建议使用商品化纯净水 (如娃哈哈纯净水)
成像	DAPI 信号丢失	DAPI 在凝胶膨胀过程中会与核酸脱离	膨胀后用纯净水配制的 DAPI 复染 2 min
	油镜下图像模糊或无法对焦	用载玻片进行油镜观察	根据物镜镜头使用相匹配的耗材进行成像, 比如在油镜下观察或拍照需使用玻底皿, 空气镜需使用载玻片
		使用试剂盒前就无信号或信号弱	重新进行免疫荧光实验
	膨胀后荧光信号弱或无信号	使用试剂盒前有信号, 但信号强度不足 (在最大激发光强度下, 目镜观察会感觉非常明亮甚至刺眼)	参照注意事项 4 操作
		所用荧光染料与本产品不兼容	推荐使用染料: AF 系列、ATTO 系列、DAPI 等
	胶发生漂动	加水过多	添加少量纯净水, 使样本保持湿润且不会在水中漂动
	同一视野部分清晰部分模糊	样本膨胀后厚度增加, 焦面变化	使用层扫功能 (Z-stack) 或多焦面拍摄, 后期进行投影融合
	长时间拍摄后信号衰减	光漂白	避免高强度且长时间激光照射
膨胀后样本保存	保存几天后拍照图像变差	样本在纯净水中保存时间过长	4°C 避光保存不超过 3~5 天, 建议尽早拍摄