

**Citoszkeleton rodamin-falloidin festése*****Pufferek:***

1. PBS	1 liter
10 mM K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> /KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , pH 7.4	
140 mM NaCl	8.18 g

Készítési javaslat:

a) 500 ml 20 mM K-foszfát puffer készítése mono- és dibázikumból (pH 7.4). b) 500 ml 20 mM K-foszfát oldathoz hozzáadni a 8.18 g NaCl-t, majd 1 literre feltölteni vízzel.

2. Paraformaldehid-PBS (2%) (friss)	100 ml
Paraformaldehid	2 g
100 ml-re feltölteni PBS oldattal	

3. Triton-PBS (0.1 %)	100 ml
Triton törzsoldat (vizes, 10%)	0.1 ml
100 ml-re feltölteni PBS oldattal	

4. Ethanolamine (MW 61.08)	100 ml
10 mM ethanolamine	60 $\mu$ l
100 ml-re feltölteni PBS oldattal	
(100 ml PBS-hez hozzápipettázni 60 $\mu$ l etanolamint)	

5. PBS-BSA	25 ml
1 % BSA	0.25 g
100 ml-re feltölteni PBS oldattal	

6. TRITC-phalloidin (friss)	2 ml
200 nM (0.2 $\mu$ M) TRITC-phalloidin	
2 ml PBS-BSA oldathoz hozzápipettázni a megfelelő mennyiség TRITC-phalloidint (pl. 100 $\mu$ M TRITC-phalloidin esetén 4 $\mu$ l TRITC-phalloidin 2 ml PBS-BSA-ba).	

***Lépések:***

1. Sejtekkel bevont fedőlemez mosása előmelegített PBS-sel. 2x
2. Mosás Tritonnal 30 perc szobahőn.
3. Mosás PBS-sel 2x.
4. Mosás paraformaldehiddel, 15 perc szobahőn
5. Mosás PBS-sel 2x.
6. Mosás etanolaminnal 5 perc szobahőn.
7. Mosás PBS-sel 2x.
8. Festés TRITC-phalloidinnal 20 perc szobahőn.
9. Mosás PBS-sel 3x 5 perc.

---

Opcionális:

10. Dehidráció felszálló alkoholsorban
11. Mosás dietiléterrel 2x.
12. Az utolsó éteres mosás után az étert a mintán hagyni, a mintát részlegesen lefedni (hogy éterg\_z alakuljon ki).
13. A mintát lassan kell kiszárítani.