

β-半乳糖苷酶染色试剂盒（细胞专用）

产品货号：R22014

产品规格：100T

产品简介：

β-半乳糖苷酶染色试剂盒(β-Galactosidase Staining Kit)是一种基于衰老时SA-β-Gal (senescence-associated β-galactosidase)活性水平上调而对衰老细胞或组织进行染色检测的试剂盒。在普通的光学显微镜下就可以观测到细胞或组织的衰老情况。绝大多数正常细胞被认为仅有有限的分裂能力，在不能分裂后就进入衰老状态。此时细胞仍然是存活的，但细胞的基因和蛋白的表达谱发生了很大改变。衰老细胞不能在一些常规的刺激下再诱导细胞分裂，并且衰老细胞的细胞周期分布也比较特殊，不同于一些损伤诱导的细胞休眠，也不同于细胞生长接触抑制的情况。衰老细胞通常体积会变大，表达 pH 6.0 时有高酶活性的β-半乳糖苷酶。细胞衰老也被认为是生物体抑制肿瘤的一种方式，同时也是生物体老化(aging)的一种潜在原因。本试剂盒可以用于培养细胞的衰老检测，也可以用于组织切片的衰老检测。

尚宝生物 β-半乳糖苷酶染色试剂盒以 X-Gal 为底物，在衰老特异性的β-半乳糖苷酶催化下会生成深蓝色产物，光学显微镜下很容易观察到变成蓝色的表达β-半乳糖苷酶的细胞或组织。本试剂盒仅染色衰老细胞，对衰老前的细胞(presenescent cells)、静止期细胞(quiescent cells)、永生细胞(immortal cells)或肿瘤细胞等不会染色。对于组织切片或组织块，可以检测的样品数量视样品的大小而定，对于普通的切片也至少足够检测 100 个样品，使用 6 孔板测定，足够测定 100 个样品。

产品组成：

产品名称	100T	保存条件
试剂(A): β-半乳糖苷酶染色固定液	100ml	4℃
试剂(B): X-Gal 溶液	5ml	-20℃，避光
试剂(C): β-半乳糖苷酶染色液 A	1ml	4℃，避光
试剂(D): β-半乳糖苷酶染色液 B	1ml	4℃，避光
试剂(E): β-半乳糖苷酶染色液 C	100ml	4℃，避光

自备材料：

1. PBS 或 HBSS
2. 细胞培养器皿
3. 显微镜

操作步骤：

(一)贴壁细胞染色：

1. 对于 6 孔板中培养的细胞，吸除细胞培养液，用 PBS 或 HBSS 洗涤 1 次，加入 1mlβ-半乳糖苷酶染色固定液，室温固定 15min。对于其它类型的培养板，固定液及后续溶液的用量参照此比例进行操作。
2. 吸除细胞固定液，用 PBS 或 HBSS 洗涤细胞 3 次，每次 3min。
3. 吸除 PBS 或 HBSS，每孔加入 1ml 染色工作液。使用聚丙烯(polypropylene)容器，不能使用聚苯乙烯(polystyrene)容器配制染色工作液。染色工作液的配制方法参考表 1。



表 1: 染色工作液的配制方法:

β -半乳糖苷酶染色液 A	10 μ l
β -半乳糖苷酶染色液 B	10 μ l
β -半乳糖苷酶染色液 C	930 μ l
X-Gal 溶液	50 μ l

说明: 对于聚丙烯容器和聚苯乙烯容器的简单的判定方法是: 聚丙烯容器可以高温高压灭菌; 而聚苯乙烯容器不适合高温高压灭菌, 一旦高温高压处理就会严重变形。

- 37 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 可以用 parafilm 或保鲜膜封住 6 孔板防止蒸发。注意: 37 $^{\circ}$ C 孵育不能在二氧化碳培养箱中进行。
- 普通光学显微镜下观察。如不能及时观察计数, 可以去除染色工作液, 加入 2ml PBS, 4 $^{\circ}$ C 可以保存数天; 或者加上封片液封片后, 4 $^{\circ}$ C 可以保存较长时间。

(二) 悬浮细胞染色:

- 离心收集细胞至 1.5ml 离心管内, 用 PBS 或 HBSS 洗涤 1 次, 加入 1ml β -半乳糖苷酶染色固定液, 室温固定 15min。固定时可以在摇床上缓慢摇动, 以避免细胞结成团块。
- 离心, 吸除细胞固定液, 用 PBS 或 HBSS 洗涤细胞 3 次, 每次 3min。
- 离心, 吸除 PBS 或 HBSS, 每管加入 0.5-1ml 染色工作液。染色工作液的配制方法参考表 1。
- 37 $^{\circ}$ C 孵育过夜。注意: 37 $^{\circ}$ C 孵育不能在二氧化碳培养箱中进行。
- 取部分染色后的细胞, 滴加到载玻片上或 6 孔板内, 普通光学显微镜下观察。如不能及时观察计数, 可以离心, 去除染色工作液, 然后加入 1ml PBS, 4 $^{\circ}$ C 可以保存数天。如果离心, 取细胞用于涂片, 加上封片液封片后, 4 $^{\circ}$ C 可以保存较长时间。

(三) 组织切片染色:

- 对于石蜡切片先按照常规方法进行脱蜡和水化处理。对于冷冻切片直接按照以下步骤进行。
- 加入适当体积的 β -半乳糖苷酶染色固定液, 以充分盖住组织为宜, 室温固定不少于 15min。
- 用 PBS 浸泡洗涤组织 3 次, 每次不少于 5min。
- 吸除 PBS, 加入适当量的染色工作液。染色工作液的配制方法参考表 1。
- 37 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 可以用 parafilm 或保鲜膜封住防止蒸发。最好把整个切片浸泡在染色工作液中。注意: 37 $^{\circ}$ C 孵育不能在二氧化碳培养箱中进行。
- 普通光学显微镜下观察。如不能及时观察, 加上封片液封片后 4 $^{\circ}$ C 可以保存较长时间。

注意事项:

- β -半乳糖苷酶染色固定液有一定的腐蚀性和毒性, 操作时请注意防护。
- β -半乳糖苷酶染色反应依赖于特定的 pH 条件, 不能在二氧化碳培养箱中进行染色反应。用于细胞培养的二氧化碳培养箱中较高浓度的二氧化碳会影响染色工作液的 pH 值, 而导致染色失败。
- β -半乳糖苷酶染色液 B 在刚刚溶解后会观察到有沉淀, 属正常现象, 充分混匀或 Vortex 后, 沉淀会全部溶解。作为常规, 试剂使用前必须确保沉淀全部溶解, 并且混匀。
- 配制染色工作液时需使用聚丙烯(polypropylene)容器或玻璃容器, 不宜使用聚苯乙烯(polystyrene)容器。但染色时可以在聚苯乙烯(polystyrene)容器中进行, 例如普通的 6 孔板就可以用作染色的容器。
- 需自备 PBS 或 HBSS(Hanks Balanced Salt Solution)。
- 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。

