

β -半乳糖苷酶染色试剂盒

货号: R20438

规格: 100T

保存: -20℃避光, 有效期 12个月。

产品内容:

名称	100T	保存
试剂(A): β -半乳糖苷酶染色固定液	100ml	2-8℃, 避光
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	2-8℃, 避光
试剂(D): β -半乳糖苷酶染色液 B	1ml	2-8℃, 避光
试剂(E): β -半乳糖苷酶染色液 C	100ml	2-8℃

产品说明:

β -半乳糖苷酶染色试剂盒(Senescence β -Galactosidase Staining Kit)是一种基于衰老时衰老相关 β -半乳糖苷酶(senescence-associated β -galactosidase; SA- β -Gal)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。本试剂盒可以用于培养细胞的衰老检测, 也可以用于冰冻切片的衰老检测。

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(senescence)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。衰老的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。衰老细胞通常体积变大, 并表达在 pH6.0时有高酶活性的 β -半乳糖苷酶(β -galactosidase)。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。

源叶生产的 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。从而在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。如果使用 6孔板检测, 可测定 100个样品; 使用 24孔板测定, 可测定 400个样品; 使用 96孔板测定, 可测定 1000个样品。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。对于普通切片的滴染可检测 100个样品。

操作说明: (仅供参考)

1.对于贴壁细胞:

a.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 1毫升 β -半乳糖苷酶染色固定液, 室温固定 15分钟。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。

b.吸除细胞固定液, 用 PBS或 HBSS洗涤细胞 3次, 每次 3分钟。

c.吸除 PBS 或 HBSS, 每孔加入 1毫升染色工作液。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	10ul
β -半乳糖苷酶染色液 B	10ul
β -半乳糖苷酶染色液 C	930ul
X-Gal溶液	50ul

d. 37℃孵育过夜，可以用封板膜或保鲜膜封住 6孔板防止蒸发。（见注意事项 3）

e. 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 2毫升PBS，4℃可以保存一周。

2.对于悬浮细胞：

a. 离心收集细胞至 1.5ml离心管内，用 PBS或 HBSS洗涤 1次，加入 1 毫升 β -半乳糖苷酶染色固定液，室温固定 15分钟。固定时可以在摇床上缓慢摇动，以避免细胞结成团块。

b. 离心，吸除细胞固定液，用 PBS或 HBSS洗涤细胞 3次，每次 3分钟。

c. 离心，吸除 PBS 或 HBSS，每管加入 0.5-1 毫升染色工作液。染色工作液的配制方法参表 1。

d. 37℃孵育过夜。注意：37℃孵育不能在二氧化碳培养箱中进行。

e. 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 1 毫升PBS，4℃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℃可以保存较长时间。

3.对于冰冻切片：

a. 冰冻切片先进行复温，用 PBS浸泡洗涤组织 3次，每次不少于 5分钟。

b. 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 15分钟。

c. 用 PBS浸泡洗涤组织 3次，每次不少于 5分钟。

d. 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。

e. 37℃孵育过夜，可以用封板膜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℃孵育不能在二氧化碳培养箱中进行。

f. 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℃可以保存较长时间。

注意事项：

1. 在石蜡包埋的过程中，温度、固定液等因素可能会导致 β -半乳糖苷酶失活，从而造成染色失败，因此本试剂盒不建议用于石蜡切片的衰老检测。如果一定要用于石蜡切片的检测，建议自行对实验条件进行一定的优化。

2. 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。

3. 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。

4. 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。

5. 需自备 PBS或 HBSS(Hanks Balanced Salt Solution)。

6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。