

## β-半乳糖苷酶染色试剂盒

### 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-(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在诱导细胞分裂，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，表达 pH6.0 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的一种潜在基因。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。

β-半乳糖苷酶染色试剂盒以 X-Gal 为底物，在耍赖特异性的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，对衰老钱细胞、静止期细胞、永生细胞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。

### 组成:

产品名称	SE001-100T	Storage
(A):β-半乳糖苷酶染色固定液	100ml	4°C
(B):X-Gal 溶液	5ml	-20°C 避光
(C):β-半乳糖苷酶染色液 A	1ml	4°C 避光
(D):β-半乳糖苷酶染色液 B	1ml	4°C 避光
(E):β-半乳糖苷酶染色液 C	100ml	4°C 避光
说明书	1 份	

### 自备仪器和用品:

- 1、PBS 或 HBSS
- 2、细胞培养皿
- 3、显微镜

### 保存条件:

4°C 避光，有效期 1 年。

### 操作步骤(仅供参考):

#### (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 1ml



$\beta$ -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次比例进行操作。

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，不用使用聚苯乙烯容器配置染色液工作液。染色工作液的配制方法参考表 1。

$\beta$ -半乳糖苷酶染色液 A	10 $\mu$ l
$\beta$ -半乳糖苷酶染色液 B	10 $\mu$ l
$\beta$ -半乳糖苷酶染色液 C	930 $\mu$ l
X-Gal 溶液	50 $\mu$ l

表 1: 染色工作液的配制方法:

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。

4、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。

5、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 2mlPBS, 4 $^{\circ}$ C 可以保存数天, 或加上封片液封后, 4 $^{\circ}$ C 可以保存较长时间。

#### (二)悬浮细胞染色:

1、离心收集细胞至 1.5ml 离心管内, 用 PBS 或 HBSS 洗涤 1 次, 加入 1ml $\beta$ -半乳糖苷酶固定液室温固定 15min。固定时可以在摇床上缓慢摇动, 以避免细胞结成团块。

2、离心, 吸除细胞固定液, 用 PBS 或 HBSS 洗涤细胞 3 次, 每次 3min。

3、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。

4、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。

5、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。如不加 1mlPBS, 4 $^{\circ}$ C 可以保存数天。如加上封片液封后, 4 $^{\circ}$ C 可以保存较长时间。

#### (三)组织切片染色:

1、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。

2、加入适当体积的 $\beta$ -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。

3、PBS 浸泡洗涤组织 3 次, 每次不少于 5min。

4、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。

5、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。

6、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 2mlPBS, 4 $^{\circ}$ C 可以保存数天, 或加上封片液封后, 4 $^{\circ}$ C 可以保存较长时间。

#### 注意事项:

1、 $\beta$ -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。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



- 2、 $\beta$ -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
- 3、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，
- 4、 $\beta$ -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 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、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(polystyrene)容器中进行，例如普通的 6 孔板就可以用作染色的容器。
- 6、需自备 PBS 或 HBSS(HanksBalancedSaltSolution)。
- 7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

