β-gal 衰老检测试剂盒

产品编号：M010

包装规格：100T

产品简介

复制能力有限是多数正常细胞的一个典型特征，在衰老时达到顶点，细胞处于仍然有活力的停滞状态。培养物中的血清或传代不会刺激衰老细胞发生分裂，并且衰老会产生特殊的细胞周期特点，此特点有别于多数损伤诱导的停滞进程或接触抑制。细胞增大、pH 依赖性 β -半乳糖苷酶活性表达以及基因表达模式改变是衰老细胞的进一步特征。

β -gal 衰老染色试剂盒以 X-gal 为底物，在衰老特异性的 β -gal 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。

试剂盒组成

组分	100T
Fixative Solution	100mL
X-gal Solution	5mL
Solution A	1mL
Solution B	1mL
Staining buffer	100mL

保存：-20℃避光保存，一年有效。

注意事项

- ✓ 本产品仅限于科学研究使用。
- ✓ 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套和口罩操作。
- ✓ 需自备 PBS。
- ✓ 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。
- ✓ 试剂解冻后如果有沉淀，必须在使用前确保沉淀全部溶解。配制染色工作液时，也可能有少量絮状沉淀出现，震荡混匀后就会完全溶解，且须确保全部溶解后才能使用。
- ✓ β-半乳糖苷酶染色固定液对人体有毒、有腐蚀性，操作时请特别小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- ✓ 加入染色工作液后，由于溶液蒸发或其它未知原因等因素，可能会有结晶形成而影响观察和拍摄照片，此

时建议吸除染色工作液，加入适量 70%乙醇进行洗涤，70%乙醇可在短时间内溶解结晶，待结晶溶解消失后再更换成 PBS 或生理盐水。70%乙醇的洗涤对染色效果没有任何影响。

✓ 细胞衰老 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。

✓ 使用多孔板进行检测时，如果孵育过夜容易产生所谓的“边缘效应”(edge effect)，最明显的是四周孔的蒸发效应，可能会导致细胞生长不均匀、细胞分布不均一、培养液体积不一致、培养液中相关成分的浓度、pH 值不一致。建议缩短孵育时间或弃用边缘孔并在弃用的边缘孔中加入等量的水、PBS 或其他适当溶液，并将整块板放在湿盒中，以尽量避免蒸发带来的边缘效应。

操作说明

A. 贴壁细胞

1) 对于 6 孔板中培养的细胞，吸除细胞培养液，用 PBS 洗涤 1 次，加入 1mL Fixative Solution，室温固定 15min。对于其它类型的培养板，溶液的用量参照此比例进行操作。

2) 弃液，用 PBS 洗涤细胞 3 次，每次 3min。

3) 吸除 PBS，每孔加入 1mL 染色工作液（吸取 50 μL X-gal Solution、10 μL Solution A、10 μL Solution B、930 μL Staining buffer，混匀即可）。

4) 37°C 孵育过夜，可以用封板膜或保鲜膜封住 6 孔板防止蒸发。

【注】37°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 2 mL PBS，4°C 可以保存数天，或者加上水性明胶封片剂封片后，4°C 可以保存较长时间。

B. 悬浮细胞

1) 离心收集细胞至 1.5mL 离心管内，用 PBS 或 HBSS 洗涤 1 次，加入 1 mL Fixative Solution，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 洗涤细胞 3 次，每次 3min。

3) 离心，吸除 PBS，每管加入 1 mL 染色工作液（吸取 50 μL X-gal Solution、10 μL Solution A、10 μL Solution B、930 μL Staining buffer，混匀即可）。

4) 37°C 孵育过夜，，可以用封板膜或保鲜膜封住 6 孔板防止蒸发。

【注】37°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。如不能及时观察计数，可以离心，去除染色工作液，然后加入 1 mL PBS，4°C 可以保存数天。或加上封片液封片后，4°C 可以保存较长时间。

C. 冰冻切片

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

2) 加入适当体积的 Fixative Solution，以充分盖住组织为宜，室温固定不少于 15min。

3) 用 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（每 mL 工作液配制可吸取 50 μL X-gal Solution、10 μL Solution A、10 μL Solution B、930 μL Staining buffer，混匀即可）。

5) 37° 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】37° 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，加上封片液封片后 4° C 可以保存较长时间。

示例

