细胞衰老β-半乳糖苷酶染色试剂盒

产品编号：MA1701　　规格：＞100T

产品内容

产品组成	MA1701-1 ＞100T
染色固定液	100mL
X-Gal 溶液	5mL
染色液 A	1mL
染色液 B	1mL
染色稀释液	100mL
说明书	1 份

产品简介

细胞衰老是细胞发生不可逆周期阻滞、丧失增殖能力但仍保持代谢活性的生物学过程，广泛参与机体衰老、肿瘤抑制、组织修复及多种退行性疾病进程。β-半乳糖苷酶（Senescence-associated β-galactosidase, SA-β-gal）是细胞衰老最经典的生物标志物，该酶在 pH 6.0 条件下具有特异性酶活，静止细胞、休眠细胞、永生化细胞或肿瘤细胞在此 pH 环境下无明显 β-半乳糖苷酶活性，可实现衰老细胞特异性识别。

细胞衰老β-半乳糖苷酶染色试剂盒，即 Senescence β-Galactosidase Staining Kit，以 X-Gal 为显色底物，在 pH 6.0 的反应体系中，衰老细胞内高表达的 SA-β-gal 可催化 X-Gal 水解生成深蓝色不溶性产物；经固定、染色后，普通光学显微镜下即可直接观察衰老细胞形态并统计阳性细胞比例。

本试剂盒操作简便，无需特殊荧光设备。适用于体外培养细胞、组织冰冻切片的衰老细胞组织化学染色，可用于氧化应激、药物干预、基因编辑、铁死亡、细胞损伤等模型下细胞衰老表型的定性与半定量分析。

对于 96 孔板中贴壁培养的细胞样品，按照每孔使用 100μL 染色液计算，本试剂盒可以进行 1000 次检测；对于 6 孔板中贴壁培养的细胞样品，按照每孔使用 1mL 染色液计算，本试剂盒可以进行 100 次检测。

保存条件

-20℃保存，自生产之日起 12 个月有效。其中 X-Gal 溶液需避光保存。染色固定液和染色稀释液短期内可 2-8℃保存。

使用方法

（一）染色工作液的配制（以 1mL 染色工作液为例）

取出 X-Gal 溶液、染色液 A、染色液 B 和染色稀释液完全融化，平衡至室温。参考下表配制适量的染色液，涡旋振荡混匀制成染色工作液。

Reagent	1mL
染色液 A	10μL
染色液 B	10μL
染色稀释液	930μL
X-Gal 溶液	50μL

配制好的染色工作液必须一次使用完毕，不建议冻存或 2-8℃保存后继续使用。

（二）贴壁细胞检测

1. 接种培养：将细胞接种于 96 孔板等多孔板、细胞培养皿中或者细胞爬片上，按实验设计对细胞进行一定处理。

2. 洗涤：对于贴壁细胞，吸除培养液，用 PBS 洗涤细胞 2 次。

3. 固定：加入染色固定液室温固定 10~15min。固定结束后，用 PBS 洗涤 1~2 次。

4. 染色：吸除孔板内原有 PBS，加入适当体积的染色工作液。通常 96 孔板每孔加入 100μL，24 孔板每孔加入 250μL，12 孔板每孔加入 500μL，6 孔板每孔加入 1mL。 37℃孵育过夜，可以用 parafilm 或保鲜膜封住孔板防止蒸发。

【注 1】：37℃孵育不能在 CO_2 培养箱中进行。

5. 检测：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，加入适量 PBS，2-8℃可以保存数天；或者加上封片液封片后，2-8℃可以保存较长时间。

【注 2】：对于药物诱导衰老易感细胞，通常 37℃孵育 12h 即有明显的显色；而对于药物诱导衰老不易感细胞，若过夜后显色不明显，可将加了染色工作液的细胞继续置于 37℃条件下（隔绝 CO_2）进行显色反应至 24h。

【注 3】：孵育温度十分影响显色结果，需要留意所用 37℃条件是否达到 37℃。

【注 4】：如果有结晶形成，可吸弃工作液，用 70%乙醇短暂漂洗溶解结晶，结晶消失后更换 PBS 或生理盐水，该操作不影响染色效果。

（三）冰冻切片检测

1. 实验准备：冰冻切片先进行复温，用 PBS 浸泡洗涤 3 次，每次不少于 5min。

2. 固定：加入适当体积的染色固定液，以充分盖住组织为宜，室温固定 10~15min。

3. 洗涤：用 PBS 浸泡洗涤 3 次，每次不少于 5min。

4. 染色：37℃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 1】：同上。

5. 检测：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 2,3,4】：同上。

注意事项

1. 石蜡包埋的温度、固定液等条件易导致β-半乳糖苷酶失活，造成染色失败，因此本试剂盒**不推荐石蜡切片衰老检测**；若必须使用，需自行优化实验条件。
2. 染色固定液有毒、具有腐蚀性，操作时需穿戴实验服、一次性手套，做好防护，避免接触皮肤或吸入。
3. X-Gal 溶液低温储存易冻结，可置于室温或 37℃水浴 2~5min，轻柔震荡即可完全融化。
4. 本染色反应对 pH 高度敏感，**严禁在 CO_2 培养箱中孵育染色**，高浓度 CO_2 会改变工作液 pH，导致染色失效。
5. 所有试剂使用前若有沉淀，需完全溶解后方可使用。染色液 B 底部少量沉淀为正常现象，充分涡旋混匀即可消散；配制工作液产生的微量絮状沉淀，振荡混匀溶解后再使用。
6. 96 孔板过夜孵育易出现边缘效应，引发蒸发不均、细胞生长及体系 pH/浓度偏差。可通过缩短孵育时间、弃用边缘孔并填充 PBS/纯水、板槽加水、湿盒孵育、使用防挥发盖、样品随机排布等方式规避。
7. 实验需自备 PBS 或 D-Hank's 缓冲液。
8. 本产品仅用于专业科研，禁止用于临床诊疗、食品药品相关领域，禁止存放于普通住宅。
9. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

大连美仑生物技术有限公司
官网:https://www.meilunbio.com/
电话/邮箱:0411-62910999 sales@meilune.com
本产品仅供科研使用

