

溶酶体β-半乳糖苷酶染色试剂盒

产品编号	产品名称	包装
C0605	溶酶体β-半乳糖苷酶染色试剂盒	>100次

产品简介:

- 溶酶体β-半乳糖苷酶染色试剂盒(Lysosomal β-Galactosidase Staining Kit)是一种对溶酶体中酸性β-半乳糖苷酶(Acid β-Galactosidase)进行染色检测的试剂盒，常用作细胞衰老检测时的对照。在普通的光学显微镜下就可以观测到细胞或组织中溶酶体酸性β-半乳糖苷酶的活力水平情况。本试剂盒可以用于培养细胞的检测，也可以用于组织切片的检测。
- 绝大多数正常细胞都可以检测到较高水平的溶酶体β-半乳糖苷酶活性水平。可以用作细胞衰老β-半乳糖苷酶染色时的参考染色。细胞衰老特异的β-半乳糖苷酶仅在衰老时表达，而溶酶体β-半乳糖苷酶几乎在任何情况下都表达。
- 碧云天生产的溶酶体β-半乳糖苷酶染色试剂盒，以X-Gal为底物，在溶酶体酸性β-半乳糖苷酶的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。本产品染色后的HeLa细胞请参考图1。

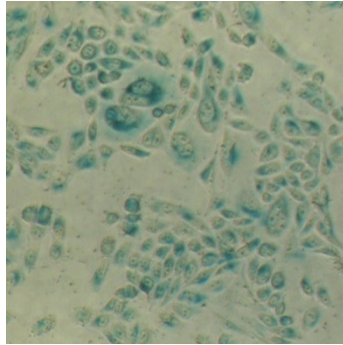
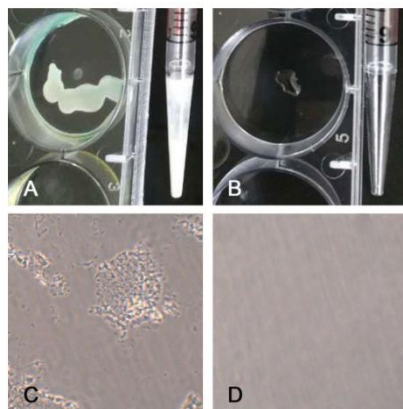


图1. HeLa细胞使用本产品染色后的示例图片。

- 本试剂盒仅染色溶酶体酸性β-半乳糖苷酶，不会染色衰老特异性的β-半乳糖苷酶，也不会染色外源转染表达的用于报告基因的β-半乳糖苷酶(大肠杆菌的β-半乳糖苷酶)。
- **主要特点:** 本试剂盒经过多方面的优化，是同类产品中所首创的能兼容普通的细胞培养用多孔板、移液管等聚苯乙烯类材质耗材或容器的试剂盒。本试剂盒可以有效避免由于和多孔板、移液管等的不兼容导致的染色偏弱、染色效果不稳定等情况。通常同类试剂盒要求使用可高温高压灭菌的聚丙烯(polypropylene)材质的耗材、容器或玻璃容器进行溶液的配制，而不能使用普通的多孔板、移液管等聚苯乙烯(polystyrene)类材质的容器或耗材，否则可能会出现絮状沉淀，影响实验观察。即使严格按照要求操作，也会在染色时间比较长的情况下，容易出现絮状物沉淀(参考图2)。本试剂盒经过多方面的优化，对耗材或容器的材质无特殊要求，可以兼容普通的多孔板和移液管等常用耗材和容器。而且配制的工作液不会产生沉淀或不溶物，使用更加便捷。



国际同类试剂盒 碧云天试剂盒

图2. 本试剂盒优化前后的对比图。优化前，X-Gal溶液直接接触聚苯乙烯类材质的材料如移液管、多孔板等会产生明显的腐蚀(A图)，使用聚苯乙烯容器配制染色工作液后，在显微镜下观察有异常的絮状不溶物(C图)；优化后，X-Gal溶液直接接触聚苯乙烯类材质的材料观察不到有任何异常情况(B图)，使用聚苯乙烯容器配制染色工作液后，在显微镜下观察也没有任何异常情况(D图)。

- 如果使用6孔板检测，足够测定100个样品；使用24孔板测定，足够测定400个样品；使用96孔板测定，足够测定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足够检测100个样品。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
C0605-1	β-半乳糖苷酶染色固定液	100ml
C0605-2	X-Gal溶液	5ml
C0605-3	β-半乳糖苷酶染色液A	1ml
C0605-4	β-半乳糖苷酶染色液B	1ml
C0605-5	β-半乳糖苷酶染色液C	100ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，一年有效。其中X-Gal溶液需避光保存。

注意事项：

- 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。
- X-Gal溶液在-20°C或4°C保存会冻结，室温或37°C水浴2-5分钟并适当摇动即可完全融解。
- 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。
- 使用96孔板等多孔板进行检测时，如果孵育过夜容易产生所谓的‘边缘效应’(edge effect)，即多孔板四周的孔由于和外界最直接接触，易受外界环境影响，其中最明显的是四周细胞培养孔的蒸发效应。边缘效应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。建议采取以下方法避免96孔板等多孔板的边缘效应：避免孵育过长时间，以避免蒸发等带来的边缘效应；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；在多孔板非孔的凹陷处加入适量的水或其他适当溶液；将整块板放在湿盒中；使用防挥发盖；在实验设计时，实验样品最好进行随机分配，不要将某一组样品固定放在某个位置而引入可能的系统性误差。
- 需自备PBS或HBSS(Hanks Balanced Salt Solution)。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 对于贴壁细胞：

- 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。
- 吸除细胞固定液，用PBS或HBSS洗涤细胞3次，每次3分钟。
- 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	10μl
β-半乳糖苷酶染色液B	10μl
β-半乳糖苷酶染色液C	930μl
X-Gal溶液	50μl

- 37°C孵育过夜，可以用parafilm或保鲜膜封住6孔板防止蒸发。
- 普通光学显微镜下观察。如不能及时观察，可以去除染色工作液，加入2毫升PBS，4°C可以保存数天；或者加上封片液封片后，4°C可以保存较长时间。

2. 对于悬浮细胞：

- 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。
- 离心，吸除细胞固定液，用PBS或HBSS洗涤细胞3次，每次3分钟。
- 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考表1。
- 37°C孵育过夜。
- 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，可以离心，去除染色工作液，然后加入1毫升PBS，4°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°C可以保存较长时间。

3. 对于组织切片：

- 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15分钟。
- 用PBS浸泡洗涤组织3次，每次不少于5分钟。
- 吸除PBS，加入适量的染色工作液。染色工作液的配制方法参考表1。
- 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。

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°C可以保存较长时间。

使用本产品的文献：

1. Yang Z, Zhang Y, Yang Y, Sun L, Han D, Li H, Wang C. Pharmacological and toxicological target organelles and safe use of single-walled carbon nanotubes as drug carriers in treating Alzheimer disease. *Nanomedicine*. 2010;6(3):427-41.
2. Liang Jin, Chenxin Chen, Gaozhi Jia, Yutong Li, Jian Zhang, Hua Huang, Bin Kang, Guangyin Yuan, Hui Zeng, Tongxin Chen. The bioeffects of degradable products derived from a biodegradable Mg-based alloy in macrophages via heterophagy *Acta Biomater*. 2020 Apr 1;106:428-438.
3. Tingting Li, Zhenhua Luo, Song Lin, Chujun Li, Shenkun Dai, Haoli Wang, Junjiu Huang, Wenbin Ma, Zhou Songyang, Yan Huang. MiR-185 targets POT1 to induce telomere dysfunction and cellular senescence *AGING-US*. 2020 Jul 18;12(14):14791-14807.
4. Yusheng Cai, Huanhuan Zhou, Yinhua Zhu, Qi Sun, Yin Ji, Anqi Xue, Yuting Wang, Wenhan Chen, Xiaojie Yu, Longteng Wang, Han Chen, Cheng Li, Tuoping Luo, Hongkui Deng. Elimination of senescent cells by β -galactosidase-targeted prodrug attenuates inflammation and restores physical function in aged mice *Cell Res*. 2020 Jul;30(7):574-589.
5. Hui-Hui Wang, Ya-Nan Sun, Tai-Qi Qu, Xue-Qin Sang, Li-Mian Zhou, Yi-Xuan Li, Fa-Zheng Ren. Nobiletin Prevents D-Galactose-Induced C2C12 Cell Aging by Improving Mitochondrial Function. *Int J Mol Sci*. 2022 Oct 8;23(19):11963.

Version 2024.03.12