细胞衰老β-半乳糖苷酶染色试剂盒
Cell senescence β-Galactosidase Staining Kit

产品编号	产品名称	包装规格
NBS0259	细胞衰老β-半乳糖苷酶染色试剂盒	100T

产品简介：

β-半乳糖苷酶染色试剂盒是一种基于衰老时衰老相关半乳糖苷酶(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。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原因。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，在衰老特异性的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，对正常培养的衰老前的细胞、静止期细胞、永生细胞或肿瘤细胞等不会染色。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。

保存条件:

-20℃避光保存，1 年有效。

产品组成：

组分	名称	规格（100T)
NBS0259-A	试剂 A：β-Gal 固定液	100mL
NBS0259-B	试剂 B：X-Gal 溶液	5mL
NBS0259-C	试剂 C：β-Gal 染色液 A	1mL
NBS0259-D	试剂 D：β-Gal 染色液 B	1mL
NBS0259-E	试剂 E：β-Gal 染色液 C	100mL

染色工作液的配制方法。按照试剂 B:C:D:E=5:1:1:93 的比例配置染色工作液，现用现配。

组分	名称	体积
NBS0259-B	试剂 B：X-Gal 溶液	50μL
NBS0259-C	试剂 C：β-Gal 染色液 A	10μL
NBS0259-D	试剂 D：β-Gal 染色液 B	930μL
NBS0259-E	试剂 E：β-Gal 染色液 C	50μL

产品使用：（仅供参考）

注意：配置染色工作液推荐使用聚丙烯(PP)容器，不能使用聚苯乙烯(PS)容器配制染色工作液。

染色过程中的 37℃孵育不能在二氧化碳培养箱中进行，易造成假阳性染色。

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 洗涤 1 次，加入 1mL β-Gal 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此比例进行操作。
2. 吸除细胞固定液，用 1×PBS 洗涤细胞 3 次，每次 3min。(优选步骤见注意事项 3)
3. 按照比例配置染色工作液。吸除β-Gal 清洗液，每孔加入 1mL 染色工作液。
4. 37℃孵育过夜 12-24h,可以用封板膜或保鲜膜封住 6 孔板防止蒸发。
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 2mL PBS,2-8℃可以保存数天；或者加上水性明胶封片剂封片后，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 洗涤 1 次，加入 1mL β-Gal 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 1×PBS 洗涤细胞 3 次，每次 3min。(优选步骤见注意事项 3)
3. 按照比例配置染色工作液。离心，吸除β-Gal 清洗液，每管加入 0.5-1mL 染色工作液。37℃孵育过夜 12-24h。
4. 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 1mL PBS,2-8℃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，2-8℃可以保存较长时间。

三、组织切片染色：

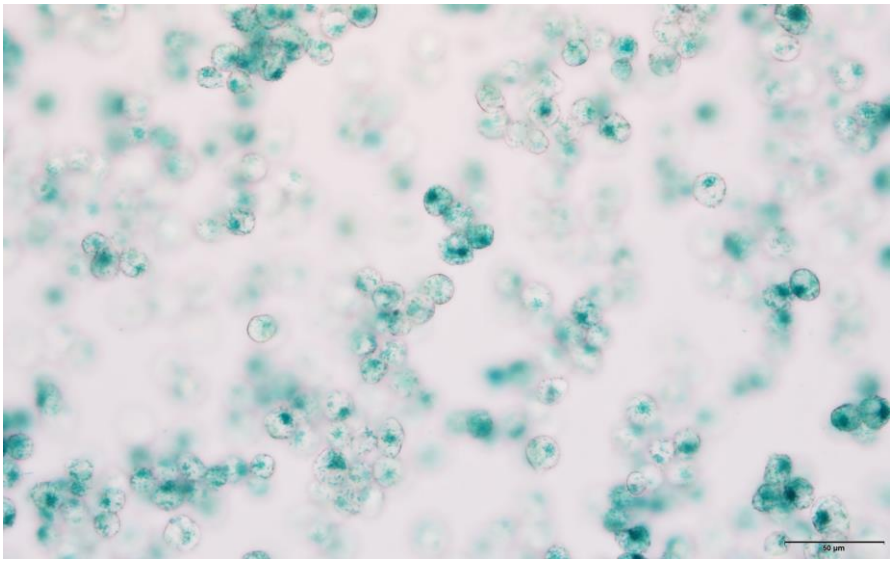
1. 对于酶保护处理过的冷冻切片，直接按照以下步骤进行。(见注意事项 4)

2. 滴加适当体积的β-Gal 固定液，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。(优选步骤见注意事项 3)
4. 按照比例配置染色工作液。滴加适当量的染色工作液。
5. 37℃孵育过夜 12-24h。建议使用湿盒防止挥发或把整个切片浸泡在染色工作液中。
6. 普通光学显微镜下观察。如不能及时观察，可使用水性明胶封片剂封片保存。

注意事项：

1. β-Gal 固定液有一定的腐蚀性和毒性，操作时请注意防护。
2. 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。
3. 优选步骤，在滴加染色工作液之前使用试剂(E)：β-Gal 染色液 C 替代 1×PBS 进行清洗和孵育。
4. 半乳糖苷酶稳定性较差，在使用多聚甲醛固定或制备石蜡切片时极易灭活，建议制备速冻切片，或使用酶保护型专用固定液：G2195 半乳糖苷酶定色剂进行固定和冰冻切片制备。组织浸于半乳糖苷酶定色剂中可稳定酶活至少一周。
5. 配制染色工作液时需使用聚丙烯(PP)容器或玻璃容器，不宜使用聚苯乙烯(PS)容器。但染色时对容器材质无要求，例如普通的 6 孔板就可以用作染色的容器。
6. 爬片或涂片如需长期保存可染色后蒸馏水洗 2 次，倾去多余液体晾干后中性树胶封片。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

实验图片：



损伤造模悬浮细胞涂片

酶活性位点着绿色，红色复染液复染后呈蓝色。细胞呈淡黄色或细胞本色

相关产品：

产品编号	产品名称	包装规格
NBS2001-1g	X-Gal 5-溴-4-氯-3-吲哚-β-D-吡喃半乳糖苷	1g
NBS2005-1g	IPTG 异丙基-β-D-硫代半乳糖苷	1g
NBS5161-1g	ONPG 邻硝基苯-β-D-吡喃半乳糖苷	1g
NBS5162-100mg	Magenta-Gal β-半乳糖苷酶显色底物（红色）	100mg
NBS5163-100mg	Bluo-Gal β-半乳糖苷酶显色底物（蓝色）	100mg
NBS5164-1mg	FDG 荧光素二(β-D-吡喃半乳糖苷)	1mg
NBS5165-100mg	5-溴-4-氯-3-吲哚辛酯	100mg
NBS5166-100mg	5-溴-6-氯-3-吲哚辛酯	100mg
NBS0259	细胞衰老β-半乳糖苷酶染色试剂盒	100T

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其他用途！