

## 溶酶体 $\beta$ -半乳糖苷酶染色试剂盒

产品货号: BA1802

产品规格: 100T

### 产品简介:

溶酶体 $\beta$ -半乳糖苷酶染色试剂盒(Lysosomal  $\beta$ -Galactosidase Staining Kit)是一种对溶酶体中酸性 $\beta$ -半乳糖苷酶(Acid  $\beta$ -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 $\beta$ -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 $\beta$ -半乳糖苷酶活性水平。可以用作细胞衰老 $\beta$ -半乳糖苷酶染色时的参考染色。细胞衰老特异的 $\beta$ -半乳糖苷酶仅在衰老时表达,而溶酶体 $\beta$ -半乳糖苷酶几乎在任何情况下都表达。

尚宝生物生产的溶酶体 $\beta$ -半乳糖苷酶染色试剂盒,以X-Gal为底物,在溶酶体酸性 $\beta$ -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 $\beta$ -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。

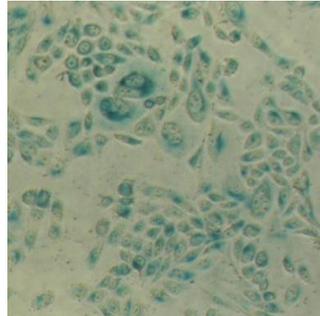


图1. HeLa细胞使用本产品染色后的示例图片。

本试剂盒仅染色溶酶体酸性 $\beta$ -半乳糖苷酶,不会染色衰老特异性的 $\beta$ -半乳糖苷酶,也不会染色外源转染表达的用于报告基因的 $\beta$ -半乳糖苷酶(大肠杆菌的 $\beta$ -半乳糖苷酶)。

**主要特点:** 本试剂盒经过多方面的优化,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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

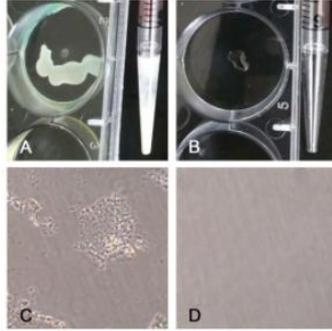
地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>



国际同类试剂盒 尚宝生物试剂盒

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。

#### 产品组成:

产品名称	100T
$\beta$ -半乳糖苷酶染色固定液	100ml
X-Gal溶液	5ml
$\beta$ -半乳糖苷酶染色液A	1ml
$\beta$ -半乳糖苷酶染色液B	1ml
$\beta$ -半乳糖苷酶染色液C	100ml

#### 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 $\beta$ -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。

$\beta$ -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

- 37 $^{\circ}$ 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。如不能及时观察计数, 可以去除染色工作液, 加入2毫升PBS, 4 $^{\circ}$ C可以保存数天; 或者加上封片液封片后, 4 $^{\circ}$ 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 $\beta$ -半乳糖苷酶染色固定液, 室温固定15



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>

分钟。固定时可以在摇床上缓慢摇动，以避免细胞结成团块。

- b. 离心，吸除细胞固定液，用PBS或HBSS洗涤细胞3次，每次3分钟。
  - c. 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。
  - d. 37℃孵育过夜。
  - e. 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毫升PBS，4℃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℃可以保存较长时间。
3. **对于组织切片：**
- a. 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。
  - b. 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。
  - c. 用PBS浸泡洗涤组织3次，每次不少于5分钟。
  - d. 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。
  - e. 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。
  - 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℃可以保存较长时间。

#### 注意事项：

1. 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。
2. X-Gal溶液在-20℃或4℃保存会冻结，室温或37℃水浴2-5分钟并适当摇动即可完全融解。
3. 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。
4. 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。
5. 需自备PBS或HBSS(Hanks Balanced Salt Solution)。
6. 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。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**保存条件：**-20℃保存，一年有效。其中X-Gal溶液需避光保存。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>