

β-半乳糖苷酶原位染色试剂盒

产品编号	产品名称	包装
RG0039	β-半乳糖苷酶原位染色试剂盒	>100次

产品简介:

- β-半乳糖苷酶原位染色试剂盒(In Situ β-galactosidase Staining Kit)是一种用于细胞或组织β-半乳糖苷酶原位染色检测的试剂盒。β-半乳糖苷酶是一种常用的报告基因分子,通过原位染色,在普通的光学显微镜下就可以用于检测到β-半乳糖苷酶的表达。本试剂盒可以用于组织切片的染色,也可以用于培养细胞的染色。
- 碧云天生产的β-半乳糖苷酶原位染色试剂盒,以X-Gal为底物,在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。
- **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。

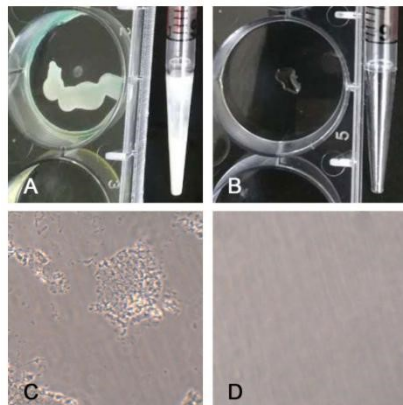


图2. 本试剂盒优化前后的对比图。优化前 国际同类试剂盒 碧云天试剂盒 质的材料如移液管、多孔板等会产生明显的腐蚀(A图),使用聚苯乙烯容器配制染色工作液后,在显微镜下观察有异常的絮状不溶物(C图);优化后, X-Gal溶液直接接触聚苯乙烯类材质的材料观察不到有任何异常情况(B图),使用聚苯乙烯容器配制染色工作液后,在显微镜下观察也没有任何异常情况(D图)。

- 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
RG0039-1	β-半乳糖苷酶染色固定液	100ml
RG0039-2	X-Gal溶液	5ml
RG0039-3	β-半乳糖苷酶染色液A	1ml
RG0039-4	β-半乳糖苷酶染色液B	1ml
RG0039-5	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℃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。
- 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。
- 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：

对于培养细胞样品：

1. 转染细胞：采取适当的方法将表达β-半乳糖苷酶的质粒转染细胞。转染细胞24-48小时后可以使用本试剂盒进行原位染色，检测β-半乳糖苷酶的表达。
2. 对于6孔板，吸除细胞培养液，加入1毫升β-半乳糖苷酶染色固定液，室温固定10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。
3. 吸除细胞固定液，用PBS洗涤细胞3次，每次3分钟。
4. 吸除PBS，每孔加入1毫升染色工作液。染色工作液的配制如下：

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

5. 37℃孵育20分钟至2小时，或更长时间，直至部分细胞的颜色变蓝。如果孵育时间较长，可以用parafilm或保鲜膜封住6孔板防止蒸发。
6. 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℃可以保存数天。如果用于计算转染效率，转染效率=染色阳性细胞数/总细胞数×100%。

对于组织切片或非常小的组织块：

1. 对于组织切片或非常小的组织块，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10分钟。对于小的组织块，固定时间应该适当延长。
2. 用PBS洗涤组织3次，每次不少于5分钟。对于组织块，时间还要适当延长。
3. 吸除PBS，每孔加入1毫升染色工作液。染色工作液的配制参照上面对于培养细胞样品的第4步。
4. 37℃孵育20分钟至2小时，或更长时间，直至部分细胞的颜色变蓝。如果孵育时间较长，可以用parafilm或保鲜膜封住放置组织的容器，以防止蒸发。
5. 吸除染色工作液，用PBS洗涤组织3次，每次不少于5分钟。对于组织块，时间还要相应延长。
6. 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℃可以保存数天。

使用本产品的文献：

1. Zhang Q, Yu K, Yuan W, Xue F, Sun H, Zhu H. Purification of large-scale plasmid DNAs by selective precipitation with cetyltrimethylammonium bromide. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*. 2008 Dec;24(12):2117-21.
2. Zhang L, Gao X, Men K, Wang B, Zhang S, Qiu J, Huang M, Gou M, Huang N, Qian Z, Zhao X, Wei Y. Gene therapy for C-26 colon cancer using heparin-polyethyleneimine nanoparticle-mediated survivin T34A. *Int J Nanomedicine*. 2011;6:2419-27.
3. Li J, Zeng W, Huang Y, Zhang Q, Hu P, Rabkin SD, Liu R. Treatment of breast cancer stem cells with oncolytic herpes simplex virus. *Cancer Gene Ther*. 2012 Oct;19(10):707-1.
4. Wang XJ, Li Y, Huang H, Zhang XJ, Xie PW, Hu W, Li DD, Wang SQ. A simple and robust vector-based shRNA expression system used for RNA interference. *PLoS One*. 2013;8(2):e56110.
5. Pu L, Geng Y, Liu S, Chen J, Luo K, Wang G, Gu Z. Electroneutralized amphiphilic triblock copolymer with a peptide dendron for efficient muscular gene delivery. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2014 Sep 10;6(17):15344-51.
6. Wang J, Dan G, Shangguan T, Hao H, Tang R, Peng K, Zhao J, Sun H, Zou Z. miR-198 Represses the Proliferation of HaCaT Cells by Targeting Cyclin D2. *Int J Mol Sci*. 2015 Jul 27;16(8):17018-28.
7. Tan W, Gu Z, Shen B, Jiang J, Meng Y, Da Z, Liu H, Tao T, Cheng C. PTEN/Akt - p27kip1 signaling promote the BM - MSCs senescence and apoptosis in SLE patients. *J Cell Biochem*. 2015 Aug;116(8):1583-94.
8. Lei R, Zhang K, Liu K, Shao X, Ding Z, Wang F, Hong Y, Zhu M, Li H, Li H. Transferrin receptor facilitates TGF-β and BMP signaling activation to control craniofacial morphogenesis. *Cell Death Dis*. 2016 Jun 30;7(6):e2282
9. Zhang Y, Huang X, Zhao XY, Hu YJ, Sun HY, Kong WJ. Role of the Ubiquitin C-Terminal Hydrolase L1-Modulated Ubiquitin Proteasome System in Auditory Cortex Senescence. *Orl J Oto-rhino-lary*. 2017;79(3):153-163..
10. Gu C, Li Y, Liu J, Ying X, Liu Y, Yan J, Chen C, Zhou H, Cao L, Ma Y. LncRNA mediated SIRT1/FoxO3a and SIRT1/p53 signaling pathways regulate type II alveolar epithelial cell senescence in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Mol Med Rep*. 2017 May;15(5):3129-3134.
11. Shen T, Li S, Cai LD, Liu JL, Wang CY, Gan WJ, Li XM, Wang JR, Sun LN, Deng M, Liu YH, Li JM. Erbin exerts a protective effect against inflammatory bowel disease by suppressing autophagic cell death. *Oncotarget*. 2018 Jan 4;9(15):12035-12049.
12. Cheng L, Jiang H, Fan J, Wang J, Hu P, Ruan Y, Liu R. A novel oncolytic herpes simplex virus armed with the carboxyl-terminus of murine MyD116 has enhanced anti-tumour efficacy against human breast cancer

cells.Oncol Lett . 2018 May;15(5):7046-7052.

13. Li Z,Liu T,Ma J,Guo Q,Ma L,Lv Q,Jiang Y,Wei C,Zhang J.TGF- β induces corneal endothelial senescence via increase of mitochondrial reactive oxygen species in chronic corneal allograft failure.Aging-us . 2018 Nov 28;10(11):3474-3485.

14. Hongwei Liao,Xiang Li,Lianzheng Zhao,Yalong Wang,Xiaodan Wang,Ye Wu,Xin Zhou,Wei Fu,Lei Liu,Hong-Gang Hu,Ye-Guang Chen. A PROTAC peptide induces durable β -catenin degradation and suppresses Wnt-dependent intestinal cancer. Cell Discov. 2020 Jun 9;6:35.;doi: 10.1038/s41421-020-0171-1.

Version 2021.11.02