

细胞衰老β-半乳糖苷酶染色试剂盒

产品介绍

细胞衰老 (Cell Senescence) 是指细胞在执行生命活动过程中，随着时间的推移，细胞增殖与分化能力和生理功能逐渐发生衰退的变化过程。通常情况下，机体会对衰老细胞进行清除，而未被清除的衰老细胞则可能会体内积累，引起低水平的炎症或进一步诱导临近组织衰退、癌变等。细胞衰老的一些特征包括细胞形态改变、细胞周期停滞、衰老相关分泌表型、大分子损伤及代谢紊乱等。目前，鉴别细胞衰老特异性最强的标志为衰老相关β-半乳糖苷酶 (senescence associated β galactosidase, SA-β-Gal)，随着细胞的衰老其会逐渐累积，而在衰老前细胞、静止细胞和终末分化细胞中则是缺乏的。

本试剂盒利用衰老细胞中的β-Gal 在 pH 为 6.0 时可以催化 5-溴-4-氯-3-吲哚基-β-D-吡喃半乳糖苷 (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranoside, X-gal) 水解生成蓝色物质，从而可在光学显微镜下观察到细胞或组织的衰老状况。

以贴壁细胞（6孔板）举例，每孔 1 mL 染色工作液，100 mL 可用于 100 个孔的染色。

应用范围

细胞衰老检测

产品货号

C6049

储运条件

-20℃避光保存，有效期见外包装；冰袋运输。

产品特点

效果明显：蓝色物质明显，方便观察；

稳定性好：可以耐受 20 次的反复冻融及短时间常温运输。

产品组分

组分	100 T
A. β-半乳糖苷酶染色固定液	100 mL
B. β-半乳糖苷酶染色液 A	1.5 mL
C. β-半乳糖苷酶染色液 B	1.5 mL
D. β-半乳糖苷酶染色液 C	100 mL
E. X-Gal 溶液	5 mL

注：E 组分 X-Gal 溶液需避光保存。

注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 细胞衰老β-半乳糖苷酶检测依赖于特定的 pH 条件，而 CO₂ 培养箱中较高浓度的 CO₂ 会影响染色工作液的 pH 值，因此，37℃ 孵育不能在 CO₂ 培养箱中进行。
- X-Gal 溶液在 -20℃ 或 4℃ 保存会冻结，室温或 37℃ 水浴 2~5 min 并适当摇动即可完全融解，若需要分装该溶液或配置染色工作液，需要使用聚丙烯 (PP) 或玻璃材质的耗材，不要使用聚苯乙烯 (PS) 耗材，如细胞培养板、血清移液管等。
- β-半乳糖苷酶染色液 B 的管底可能存在少量沉淀，属正常现象，请充

分震荡涡旋，待全部溶解后再进行染色实验。

- 本试剂盒理论上可以适用于冰冻切片样本，不适用于石蜡切片样本。如需染色切片样本，请参考相关文献并进行预实验摸索方案。
- 本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品和药品，不得存放于普通住宅内。
- β-半乳糖苷酶染色固定液存在一定的毒性和腐蚀性，为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作，避免直接接触人体或吸入体内。

自备材料

- 耗材
离心管
- 试剂
(1)0.85%NaCl (2)0.7 mL 异丙醇
- 仪器
(1)分光光度计 (2)荧光显微镜 (3)流式细胞仪

操作步骤

1. 贴壁细胞染色（6孔板）

- 细胞铺板过夜，待细胞生长至 60~80%汇合度时可以进行实验。
- 去除细胞培养液，用 PBS 清洗 1 次。
- 加入 1 mL β-半乳糖苷酶染色固定液，室温固定 10~15 min。
- 去除β-半乳糖苷酶染色固定液，用 PBS 清洗 3 次，每次 2~3 min。
- 根据表 1 配置染色工作液，具体染色工作液总量请根据样本类型、样本数等进行计算。

表 1 染色工作液

反应组分	以 1 mL 的染色工作液为例
β-半乳糖苷酶染色液 A	10 μL
β-半乳糖苷酶染色液 B	10 μL
β-半乳糖苷酶染色液 C	940 μL
X-Gal 溶液	40 μL

注：1)为减少样本染色过程中出现结晶现象，建议 X-Gal 使用前可适当 37℃ 加热 1~3 h。

2)染色工作液需要现配现用，并尽量在 15 min 内用完。

(6)去除 PBS，每孔加入 1 mL 染色工作液，37℃ 无 CO₂ 培养箱孵育过夜。

注：为防止液体蒸发影响染色结果，建议在边缘孔中加入水或 PBS，减少“边缘效应”，同时用封口膜或保鲜膜封住孔板。

(7)普通光学显微镜下进行观察计数。

(8)可选：去除染色工作液，加入 2 mL PBS，4℃ 可保存数天。

2. 悬浮细胞染色

(1)收集细胞，2500×g 离心 10 min，用 PBS 清洗 1 次。

(2)加入 1 mL β-半乳糖苷酶染色固定液，室温固定 10~15 min。

注：可将细胞放置摇床上缓慢摇动，以避免细胞结团。

(3)2500×g 离心 10 min，去除β-半乳糖苷酶染色固定液，用 PBS 清洗 3 次，每次 1~3 min。

(4)根据表 1 配置染色工作液，具体染色工作液总量请根据样本类型、样本数等进行计算。

(5)2500×g 离心 10 min，去除 PBS。每管加入 0.5~1 mL 染色工作液，37℃ 孵育过夜。

(6)吸取部分细胞滴加到载玻片上或 6 孔板内，普通光学显微镜下进行观察计数。

(7)可选：去除染色工作液，再加入 1 mL PBS，4℃ 可保存数天。

3. 染色效果图 (图 1)

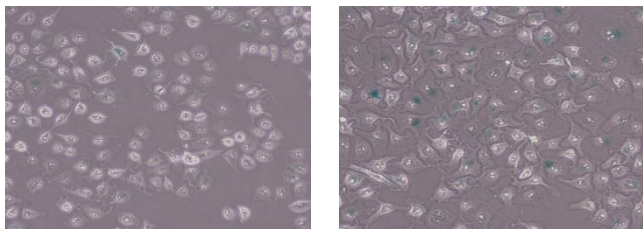


图 1 HeLa 细胞衰老效果图。(左) 阴性, (右) 阳性

FAQ

1. 问:按照说明书上的 37°C 孵育过夜效果不佳,颜色很浅,该怎么解决?
答:可以相应延长孵育时间, 24 h 或 48 h 均可试下。由于我们内部是利用的 HeLa 细胞为样本进行研发试剂盒的或者实验室条件的不同,其他的细胞样本可以进行相应的孵育时间调整以适应本身样本和实验室条件。
2. 问:为什么观察的时候有结晶?该怎么解决?
答:有结晶是正常现象,可以根据说明书中减少结晶的方法去进行操作。小结晶对于实验的影响不大,大结晶可能会影响观察,可用 PBS 或者 75% 酒精进行漂洗或者重新进行操作。