



细胞衰老 β -半乳糖苷酶染色试剂盒

货号: R43787

储存条件: 避光; -20°C ; 避免反复冻融

有效期: 12个月

产品简介:

细胞衰老 (Cellsenscence) 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。

产品组分表:

R43787-A	β -半乳糖苷酶染色固定液	100 mL	-20°C . Avoid freeze/thaw cycle.
R43787-B	β -半乳糖苷酶染色液 A	1.5 mL	20°C . Avoid freeze/thaw cycle.
R43787-C	β -半乳糖苷酶染色液 B	1.5 mL	-20°C . Avoid freeze/thaw cycle.
R43787-D	β -半乳糖苷酶染色液 C	100 mL	-20°C . Avoid freeze/thaw cycle.
R43787-E	X-Gal 溶液	5 mL	-20°C . Avoid freeze/thaw cycle. Store in the dark.

使用方法:



1. 贴壁细胞染色（6孔板）

- (1) 细胞铺板过夜，待细胞生长至 60% - 80%汇合度时可以进行实验。
- (2) 去除细胞培养液，用 PBS 清洗 1 次。
- (3) 加入 1 mL β -半乳糖苷酶染色固定液，室温固定 10~15 min。
- (4) 去除 β -半乳糖苷酶染色固定液，用 PBS 清洗 3 次，每次 2-3 min。
- (5) 根据表1 配制染色工作液，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 μ L
β -半乳糖苷酶染色液 B	10 μ L
β -半乳糖苷酶染色液 C	940 μ L
X-Gal 溶液	40 μ L

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。

(1) 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。

(2) 普通光学显微镜下进行观察计数。

(3) 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。

1 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。



- (2) 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。
- (3) 根据表 1 配制染色工作液，具体染色工作液总量请根据样本类型、样本数等进行计算。
- (4) 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。
- (5) 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。
- (6) 可选：去除染色工作液，再加入1 mL PBS，4℃可保存数天。

注意事项：

- 1、使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 2、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。
- 3、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。
- 4、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。
- 5、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。
- 6、β-半乳糖苷酶染色固定液存在一定的毒性和腐蚀性，操作时请穿实验服并戴一次性口罩和手套，避免直接接触人体或吸入体内。