

**产品名称:**  $\beta$ -半乳糖苷酶细胞衰老染色试剂盒

**产品货号:** RA20075

## 基本信息

|      |                                       |
|------|---------------------------------------|
| 中文名称 | $\beta$ -半乳糖苷酶细胞衰老染色试剂盒               |
| 英文名称 | $\beta$ -Gal Senescence Staining Kits |
| 产品规格 | 100T                                  |
| 存储条件 | -20°C, 避光保存                           |
| 运输条件 | 冰袋运输                                  |
| 有效期  | 12 个月                                 |

## 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  $\beta$ -半乳糖苷酶 (senescence associated  $\beta$  galactosidase, SA- $\beta$ -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  $\beta$ -Gal 在 pH 为 6.0 时可以催化 5-溴-4-氯-3-吲哚基- $\beta$ -D-吡喃半乳糖苷 (5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -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。

## 应用范围

细胞衰老检测

## 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

**产品名称:**  $\beta$ -半乳糖苷酶细胞衰老染色试剂盒

**产品货号:** RA20075

## 产品组分

| 组分                     | 100 T  |
|------------------------|--------|
| A. $\beta$ -半乳糖苷酶染色固定液 | 100 mL |
| B. $\beta$ -半乳糖苷酶染色液 A | 1.5 mL |
| C. $\beta$ -半乳糖苷酶染色液 B | 1.5 mL |
| D. $\beta$ -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。

## 自备材料

1. 耗材

离心管

2. 试剂

(1) 0.85% NaCl

(2) 0.7 mL 异丙醇

3. 仪器

光学显微镜

## 实验步骤

### 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  $\beta$ -半乳糖苷酶染色固定液, 室温固定 10~15 min。

(4) 去除  $\beta$ -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 |
|---------------------|-----------------|
| $\beta$ -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 | 940 $\mu$ L     |
| X-Gal 溶液            | 40 $\mu$ 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 °C 加热 1~3 h。

**产品名称:**  $\beta$ -半乳糖苷酶细胞衰老染色试剂盒

**产品货号:** RA20075

---

**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 °C 无 CO<sub>2</sub> 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。**

(6) 普通光学显微镜下进行观察计数。

(7) 可选：去除染色工作液，加入 2 mL PBS，4 °C 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  $\beta$ -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 $\beta$ -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 °C 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 °C 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  $\beta$ -半乳糖苷酶检测依赖于特定的 pH 条件，而 CO<sub>2</sub> 培养箱中较高浓度的 CO<sub>2</sub> 会影响染色工作液的 pH 值，因此，37 °C 孵育不能在 CO<sub>2</sub> 培养箱中进行。

3. X-Gal 溶液在 -20 °C 或 4 °C 保存会冻结，室温或 37 °C 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.  $\beta$ -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. 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。

6.  $\beta$ -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。

7. 本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗。