

产品名称: β -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	β -半乳糖苷酶细胞衰老染色试剂盒
英文名称	β -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 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。

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: β -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. 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。

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

(1) 分光光度计

(2) 荧光显微镜

(3) 流式细胞仪

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 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 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

产品名称: β -半乳糖苷酶细胞衰老染色试剂盒

产品货号: RA20075

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。

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 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。

(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 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 °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 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 °C 孵育不能在 CO₂ 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. 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. 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. 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。

7. 本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗。