

产 品 说 明 书

细胞衰老 β -半乳糖苷酶染色试剂盒

产品货号: C6049

产品规格: 100T

组分 \ 规格	100T
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

储存条件

-20°C保存, 其中 E 组分 X-Gal 溶液需避光保存。有效期见外包装。

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。

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

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。

(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°C可保存数天。

2. 悬浮细胞染色

(1) 收集细胞，2500 $\times$ 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 $\times$ 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 $\times$ 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. 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。

