

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01079

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。

β -半乳糖苷酶细胞衰老染色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

储运条件

-20 °C 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。

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.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。
7. 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

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

操作步骤

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

- 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。

3.染色效果图 (图 1)

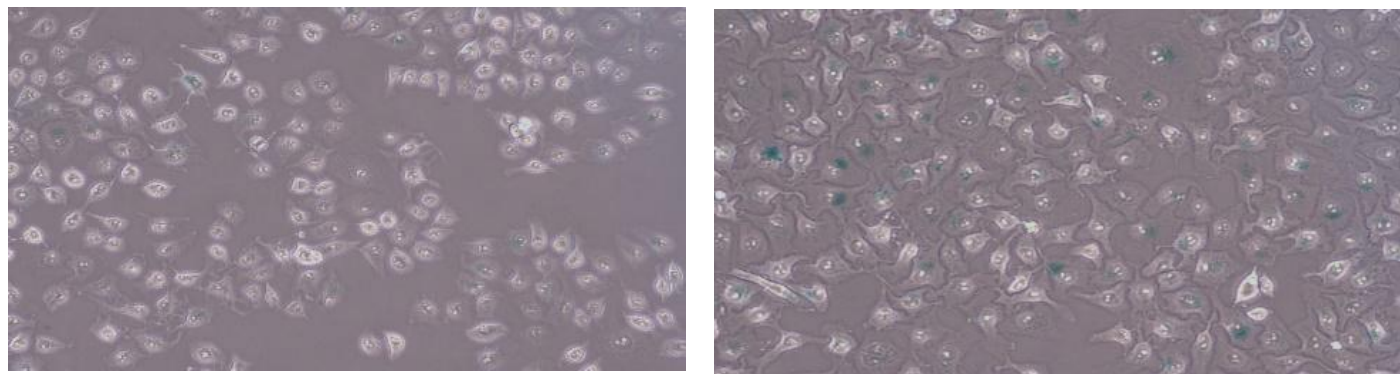


图 1 HeLa 细胞衰老效果图。（左）阴性，（右）阳性