

## β-半乳糖苷酶细胞衰老染色试剂盒

### 1 产品基本信息

产品名称（中文）：β-半乳糖苷酶细胞衰老染色试剂盒

产品名称（英文）：β-Gal Senescence Staining Kits

产品编号：MX1546

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。

### 2 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。

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。
- 稳定性好：荧光亮度强且抗淬灭性好；

适用范围：

细胞衰老检测

### 3 储存与运输

储存条件：-20 °C 避光保存

运输条件：冰袋运输

### 4 使用方法（仅供参考）

#### 一、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

## 二、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  $\beta$ -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。

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。

(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  $\beta$ -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 $\times$ 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 $\times$ 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）

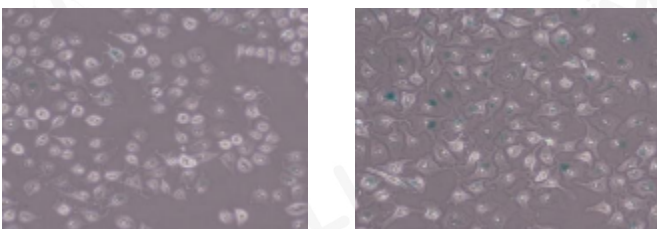


图 1 HeLa 细胞衰老效果图。（左）阴性，（右）阳性

## 5 常见问题

**Q1：**按照说明书上的 37 °C 孵育过夜效果不佳，颜色很浅，该怎么解决？

**答：**可以相应延长孵育时间，24 h 或 48 h 均可试下。由于我们内部是利用的 HeLa 细胞为样本进行研发试剂盒的或者实验室条件的不同，其他的细胞样本可以进行相应的孵育时间调整以适应本

身样本和实验室条件。

**Q2：为什么观察的时候有结晶？该怎么解决？**

**答：**有结晶是正常现象，可以根据说明书中减少结晶的方法去进行操作。小结晶对于实验的影响不大，大结晶可能会影响观察，可用 PBS 或者 75%酒精进行漂洗或者重新进行操作。

## 6 注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- 细胞衰老  $\beta$ -半乳糖苷酶检测依赖于特定的 pH 条件，而  $\text{CO}_2$  培养箱中较高浓度的  $\text{CO}_2$  会影响染色工作液的 pH 值，因此，37 °C 孵育不能在  $\text{CO}_2$  培养箱中进行。
- 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。
- $\beta$ -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。
- 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。
- 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。
- $\beta$ -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。