



# Senescence $\beta$ -Galactosidase Staining Kit

## 细胞衰老 $\beta$ -半乳糖苷酶染色试剂盒

### 产品简介

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。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。

### 产品组成

| 组分                        | 产品货号 | 组分规格  | Storage             |
|---------------------------|------|-------|---------------------|
| 试剂 A: $\beta$ -半乳糖苷酶染色固定液 |      | 100ml | -20 $^{\circ}$ C    |
| 试剂 B:X-Gal 溶液             |      | 5ml   | -20 $^{\circ}$ C 避光 |
| 试剂 C: $\beta$ -半乳糖苷酶染色液 A |      | 1.5ml | -20 $^{\circ}$ C    |
| 试剂 D: $\beta$ -半乳糖苷酶染色液 B |      | 1.5ml | -20 $^{\circ}$ C    |
| 试剂 E: $\beta$ -半乳糖苷酶染色液 C |      | 100ml | -20 $^{\circ}$ C    |
| 使用说明书                     |      | 1 份   |                     |

储存及运输条件: -20 $^{\circ}$ C 保存, 其中 B 组分 X-Gal 溶液需避光保存。冰袋运输,

### 使用方法

#### 1. 贴壁细胞染色 ( 6 孔板为例 )

- 1.1, 细胞铺板过夜, 待细胞生长至 60% - 80% 汇合度时可以进行实验。
- 1.2, 去除细胞培养液, 用 PBS 清洗 1 次。
- 1.3, 加入 1 mL  $\beta$ -半乳糖苷酶染色固定液, 室温固定 10~15 min。
- 1.4, 去除  $\beta$ -半乳糖苷酶染色固定液, 用 PBS 清洗 3 次, 每次 2-3 min。
- 1.5, 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 μL           |
| β-半乳糖苷酶染色液 B | 10 μL           |
| β-半乳糖苷酶染色液 C | 940 μL          |
| X-Gal 溶液     | 40 μL           |

**【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℃ 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。

1.6, 去除 PBS，每孔加入 1 mL 染色工作液，37℃ 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。

1.7, 普通光学显微镜下进行观察计数。

1.8, 可选：去除染色工作液，加入 2 mL PBS，4℃ 可保存数天。

## 2. 悬浮细胞染色

2.1, 收集细胞，2500 ×g 离心 10 min，用 PBS 清洗 1 次。

2.2, 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。

2.3, 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。

2.4, 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。

2.5, 2500 ×g 离心 10 min，去除 PBS。每管加入 0.5-1 mL 染色工作液，37℃ 孵育过夜。

2.6, 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。

2.7, 可选：去除染色工作液，再加入 1 mL PBS，4℃ 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 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℃ 孵育不能在 CO<sub>2</sub> 培养箱中进行。

3) X-Gal 溶液在 -20℃ 或 4℃ 保存会冻结，室温或 37℃ 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，为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 相关产品

| 产品货号   | 产品名称   | 规格    |
|--------|--|-------|
| FS1147 | Trypsin (0.25%), Phenol Red 胰酶溶液 (0.25%) 不含 EDTA, 不含酚红   | 100ml |
| FS1148 | Trypsin-EDTA (0.25%), Phenol Red 胰酶-EDTA 溶液 (0.25%), 含酚红 | 100ml |



|        |  |       |
|--------|--|-------|
| FS1150 | Accumax™ Cell Dissociation Solution 细胞解离液                          | 100ml |
| FS1157 | Cell Counting Kit (CCK-8) CCK-8 细胞增殖及毒性检测试剂                        | 500T  |
| FS1166 | JC-1 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit JC-1 线粒体膜电位检测试剂盒   | 100T  |
| FS1169 | JC-10 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit JC-10 线粒体膜电位检测试剂盒 | 100T  |
| FS1213 | 7-AAD Viability Staining Solution 7-AAD 细胞活力染色液                    | 150T  |
| FS1206 | DAPI Stain, Ready-to-use 即用型 DAPI 染液(10μg/ml)                      | 10ml  |
| FS0521 | AnnexinV-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂  | 50 次  |
| FS0522 | AnnexinV Alexa Fluor488/PI 凋亡检测试剂盒                                 | 100T  |
| FS0523 | AnnexinV Alexa Fluor647/PI 凋亡检测试剂盒                                 | 100T  |

