

Cell Senescence β -Galactosidase Staining Kit

细胞衰老 β -半乳糖苷酶染色试剂盒

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Cell Senescence β -Galactosidase Staining Kit 细胞衰老 β -半乳糖苷酶染色试剂盒	40754ES60	100T

产品描述

细胞衰老 (Cell senescence) 是细胞控制其生长潜能的保障机制, 一般含义是复制衰老 (Replicative senescence, RS), 指正常细胞经过有限次数的分裂后, 停止分裂, 此时细胞虽然是存活的, 但是细胞形态和生理代谢活性发生明显变化的现象。体外衰老细胞研究常用的生物学特征包括: 1) 不可逆的生长停滞; 2) 与衰老相关的 β -半乳糖苷酶 (senescence associated β -galactosidase, SA- β -gal) 的活化。作为溶酶体内的水解酶, 通常在 pH 4.0 的条件下表现活性, 但是衰老细胞内其在 pH 6.0 的条件下表现活性, 且随着传代次数的增加, 细胞群体中表现衰老相关的 β -半乳糖苷酶的细胞数目逐渐增加。

本试剂盒正是基于 SA- β -gal 活性变化的生物学特征而设计的, 以 X-Gal 为底物, 在衰老特异性的 β -半乳糖苷酶催化下生成深蓝色产物, 从而在光学显微镜下观察颜色变化以分析细胞的衰老状况。

本试剂盒可以培养细胞的衰老检测, 也可以用于组织切片的衰老检测。产品性能稳定, 参数经优化, 着色敏感, 特异性高。仅对衰老细胞进行染色, 不会染色衰老前的细胞 (presenescent cells)、静止期细胞 (quiescent cells)、永生细胞 (immortal cells) 或肿瘤细胞。

产品组分

组分编号	组分名称	规格
40754-A	β -半乳糖苷酶染色液 A	1.5 mL
40754-B	β -半乳糖苷酶染色液 B	1.5 mL
40754-C	β -半乳糖苷酶染色液 C	100 mL
40754-D	β -半乳糖苷酶染色固定液	100 mL
40754-E	X-Gal 溶液	5 mL

运输与保存方法

冰袋运输。-20°C保存, 一年有效, 其中 X-Gal 溶液需避光保存。

注意事项

- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 本试剂盒 β -半乳糖苷酶染色固定液存在一定的腐蚀性和毒性, 操作时请注意小心防护。
- 细胞衰老 β -半乳糖苷酶染色反应依赖于特定的 pH 值, 不能用于细胞培养的 CO₂ 培养箱中进行染色反应。因为 CO₂ 培养箱中较高浓度的 CO₂ 会影响染色工作液的 pH 值, 导致染色失败。
- 40754-B 刚溶解后会观察到有沉淀, 属正常现象, 充分混匀或者漩涡震荡可促使沉淀全部溶解, 之后才能用于染色实验。配置染色工作液时, 也可能有少量絮状沉淀出现, 震荡混匀后就会完全溶解。在染色前一定要确保所有的试剂处于完全溶解状态。
- X-Gal 溶液需要避光保存。染色工作液也需要避免光照。染色后的细胞样品可以在 4°C 冰箱避光保存。
- 本产品仅作科研用途!

使用方法

1. 实验前的准备工作:

1.1、染色工作液配制

实验开始前, 将试剂盒内各组分从冰箱内取出, 彻底溶解。其中 X-Gal 溶液最好置入冰槽里等待溶化。根据表 1 进行染色工作液的配置, 实验体系类型, 检测样本数, 统一配制单次实验需要的染色工作液总量。

表 1 染色工作液配方表

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】配制染色工作液时需使用聚丙烯 (polypropylene) 容器或玻璃容器, 不宜使用聚苯乙烯 (polystyrene) 容器, 对于二者的判定: 聚丙烯容器可高压灭菌, 而聚苯乙烯容器则不可高压灭菌, 一旦高温高压处理就会严重变形。但是染色过程可以在聚苯乙烯容器内进行, 如细胞培养常用的 6 孔板。

【注】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; 染色工作液需要现配现用, 并尽量在 15 min 内用完。

2. 6 孔细胞培养板染色 (贴壁细胞):

2.1、吸除细胞培养液, 用 PBS/HBSS 洗涤细胞 1 次, 加入 1 mL β -半乳糖苷酶染色固定液。室温固定 10~15 min。

【注】对于其它类型的培养板, 固定液及后续溶液的用量参照此比例进行操作。

2.2、吸除固定液, 用 PBS/HBSS 洗涤细胞 3 次, 每次 3 min。

2.3、吸除 PBS/HBSS, 每孔加入 1 mL 预热的染色工作液, 覆盖整个生长表面。

2.4、37°C 孵育过夜, 可以用封口膜或保鲜膜封住 6 孔板防止液体蒸发。

【注】37°C 孵育不能在 CO₂ 培养箱中进行, 因其内高浓度的 CO₂ 会影响染色工作液的 pH 值, 导致染色失败。

2.5、普通光学显微镜下观察和计数: 表达 SA β -gal 的细胞为阳性细胞, 呈现蓝色。如不能及时观察计数, 可以去除染色工作液, 加入 2 mL PBS 缓冲液, 4°C 可以保存数天, 或者加入封片剂封片后, 4°C 可保存较长时间。

3. 悬浮细胞染色:

3.1、收集细胞, 2500 \times g 离心 10 min 收集细胞至 1.5 mL 离心管内, 用 PBS/HBSS 洗涤 1 次, 加入 1 mL β -半乳糖苷酶染色固定液。室温固定 15 min。固定时可以在摇床上缓慢摇动, 以避免细胞结成团块。

3.2、2500 \times g 离心 10 min, 吸除细胞固定液, 用 PBS/HBSS 洗涤细胞 3 次, 每次 3 min。

3.3、2500 \times g 离心 10 min, 吸除 PBS/HBSS, 每管加入 0.5-1 mL 预热的染色工作液。染色工作液的配制方法参见表 1, 具体染色工作液总量请根据样本类型、样本数等进行计算。

3.4、37°C 孵育过夜。

【注】37°C 孵育不能在 CO₂ 培养箱中进行, 因其内高浓度的 CO₂ 会影响染色工作液的 pH 值, 导致染色失败。

3.5、取部分染色好的细胞, 滴加到载玻片上或 6 孔板内, 普通光学显微镜下观察和计数。如不能及时观察计数, 可以离心, 去除染色工作液, 加入 1 mL PBS 缓冲液, 4°C 可以保存数天。也可取细胞用于涂片, 加上封片剂封片后, 4°C 可保存较长时间。

4. 冰冻切片染色:

4.1、冰冻切片先进行复温, 用 PBS 浸泡洗涤组织 3 次, 每次不少于 5 分钟。

4.2、加入适当体积的 β -半乳糖苷酶染色固定液, 以充分盖住组织为宜, 室温固定不少于 15 min。

4.3、用 PBS 浸泡洗涤组织 3 次, 每次不少于 5 min。

4.4、吸除 PBS, 加入适当量的预热的染色工作液。染色工作液的配制方法参见表 1。

4.5、37°C 孵育过夜, 可以用封口膜或保鲜膜封住防止蒸发, 最好把整个切片浸泡在染色工作液中。

【注】37°C 孵育不能在 CO₂ 培养箱中进行, 因其内高浓度的 CO₂ 会影响染色工作液的 pH 值, 导致染色失败。

4.6、普通光学显微镜下观察和计数。如不能及时观察计数, 加上封片剂封片后 4°C 可保存较长时间。