

## Cell Senescence $\beta$ -Galactosidase Staining Kit

### 细胞衰老 $\beta$ -半乳糖苷酶染色试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL133A	细胞衰老 $\beta$ -半乳糖苷酶染色试剂盒	100T

#### 产品简介:

细胞衰老时, SA- $\beta$ -Gal (senescence-associated  $\beta$ -galactosidase)活性水平会上调, 此时本试剂盒可以对衰老的细胞或组织进行染色检测。

正常细胞经过有限次数的分裂后停止分裂, 出现不可逆的生长停滞, 此时细胞仍然是存活的, 但是细胞形态和生理代谢活性发生明显变化, 通常表现为细胞体积变大, 与衰老相关的 $\beta$ -半乳糖苷酶为活化状态。 $\beta$ -半乳糖苷酶是细胞溶酶体内的水解酶, 通常在 pH 4.0 时表现活性, 但在衰老细胞内该酶在 pH 6.0 条件下表现活性。本试剂盒即是基于此现象及原理, 以 X-Gal 为底物, 衰老细胞特异性 $\beta$ -半乳糖苷酶催化该底物生成蓝色产物, 表现为细胞胞质有蓝色沉积物, 在光学显微镜下即可很容易观察到变成蓝色的表达 $\beta$ -半乳糖苷酶的细胞或组织。

本试剂盒可以用于培养细胞的衰老检测, 也可以用于组织切片的衰老检测。本试剂盒仅染色衰老细胞, 对衰老前的细胞 (presenescent cells)、静止期细胞 (quiescent cells)、永生细胞 (immortal cells)或肿瘤细胞等不会染色。

#### 产品组分:

产品编号	产品名称	规格
BL133A-1	固定液	100ml
BL133A-2	染色液A	500 $\mu$ l
BL133A-3	染色液B	500 $\mu$ l
BL133A-4	染色液C	100ml
BL133A-5	X-gal	2.5ml

#### 使用方法:

##### 一、悬浮细胞

- 1、离心收集细胞于 1.5ml 离心管中, 用 PBS 轻柔洗 1-2 遍。
- 2、每管加入 500-1000 $\mu$ l 固定液, 室温固定 7.5-10min。

**注意:** 固定时可在摇床上缓慢摇动, 以免细胞结成团块。

- 3、离心, 吸去固定液, PBS 轻柔洗三遍, 每次 3min。
- 4、离心吸去 PBS, 每管加 500-1000 $\mu$ l 染色工作液 (临用前, 配置所需工作液: 5 $\mu$ l 染色液 A+5 $\mu$ l 染色

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



液 B+965 $\mu$ l 染色液 C+25 $\mu$ l 的 X-gal 充分混匀, 2-8 $^{\circ}$ C 避光, 现用现配)。

5、37 $^{\circ}$ C 无 CO<sub>2</sub> 温箱中避光孵育过夜。

6、取部分染色后的细胞, 滴加到载玻片或孔板中, 普通光学显微镜下观察, 分别计数三个不同视野, 计算蓝染的阳性细胞数。

**注意:** 如不能及时观察计数, 可以离心去除染色液后, 加入 PBS, 4 $^{\circ}$ C 保存一周。也可离心后取细胞用于涂片, 加上封片液封片后, 4 $^{\circ}$ C 保存较长时间。

## 二、贴壁细胞

1、针对 6 孔板中培养的细胞, 去除细胞培养液, 用 PBS 轻柔洗 1-2 遍。

2、每孔加入 500-1000 $\mu$ l 固定液, 室温固定 7.5-10min。

3、吸去固定液, PBS 轻柔洗三遍, 每次 3min。

4、吸去 PBS, 每孔滴加 500-1000 $\mu$ l 左右染色工作液 (临用前, 配置所需工作液: 5 $\mu$ l 染色液 A+5 $\mu$ l 染色液 B+965 $\mu$ l 染色液 C+25 $\mu$ l 的 X-gal 充分混匀, 2-8 $^{\circ}$ C 避光, 现用现配)。

5、37 $^{\circ}$ C 无 CO<sub>2</sub> 温箱中避光孵育过夜。

**注意:** 可用保鲜膜封住孔板, 防止蒸发, 不能放置于含 CO<sub>2</sub> 培养箱中。

7、普通光学显微镜下观察, 分别计数三个不同视野, 计算蓝染的阳性细胞数。

**注意:** 如不能及时观察计数, 可以去除染色液后, 加入 1ml PBS, 4 $^{\circ}$ C 保存一周。也可加上封片液封片后, 4 $^{\circ}$ C 保存较长时间。

## 三、冰冻组织切片

1、切片室温复温, PBS 浸泡组织切片 3 次, 每次不少于 5min; 加入适量的固定液, 以充分盖住组织为宜, 室温固定 15min 以上。

2、吸去固定液, PBS 轻柔洗三遍, 每次 5min。

3、吸去 PBS, 加入适量的染色工作液, 最好把整个切片浸泡在染色工作液中 (临用前, 可根据样本数量, 配置所需工作液: 5 $\mu$ l 染色液 A+5 $\mu$ l 染色液 B+965 $\mu$ l 染色液 C+25 $\mu$ l 的 X-gal 充分混匀, 2-8 $^{\circ}$ C 避光, 现用现配)。

4、37 $^{\circ}$ C 无 CO<sub>2</sub> 温箱中避光孵育过夜。

**注意:** 可用保鲜膜封住防止蒸发, 不能放置于含 CO<sub>2</sub> 培养箱中。

5、普通光学显微镜下观察, 分别计数三个不同视野, 计算蓝染的阳性细胞数。

**注意:** 如不能及时观察计数, 可加上封片液封片后, 4 $^{\circ}$ C 保存较长时间。

## 注意事项:

1、X-gal 低温保存可能会结冻, 室温或 37 $^{\circ}$ C 水浴 2-5min 溶解即可, 注意避光保存。固定液对人体有毒, 请小心操作。

2、染色液 B 低温保存可能会结晶, 55 $^{\circ}$ C 水浴 5-10min 溶解即可, 染色液 B 对人体有毒, 请小心操作。

3、染色工作液现用现配。如不能一次用完, 请分装保存。

4、细胞衰老 $\beta$ -半乳糖苷酶染色反应依赖于特定的 pH 条件, 不能在二氧化碳培养箱中进行染色反应。用于细胞培养的二氧化碳培养箱中较高浓度的二氧化碳会影响染色工作液的 pH 值, 而导致染色失败。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



5、本试剂盒不适用于石蜡切片组织样本，在石蜡包埋的过程中，温度、固定液等因素可能会导致β-半乳糖苷酶失活，从而造成染色失败；如果一定要用于石蜡切片的检测，建议自行对实验条件进行一定的优化。

6、使用 96 孔板等多孔板进行检测时，如果孵育过夜容易产生所谓的“边缘效应”，即多孔板四周的孔由于和外界最直接接触，易受外界环境影响，其中最明显的是四周细胞培养孔的蒸发效应。边缘效应会导致细胞生长不均匀、细胞分布不均一、培养液体积不一致、培养液中相关成分的浓度、pH 值不一致。建议采取以下方法避免 96 孔板等多孔板的边缘效应：避免孵育过长时间，以避免蒸发等带来的边缘效应；弃用边缘孔并在弃用的边缘孔中加入等量的水、PBS 或其他适当溶液；在多孔板非孔的凹陷处加入适量的水或其他适当溶液；将整块板放在湿盒中；使用防挥发盖；在实验设计时，实验样品最好进行随机分配，不要将某一组样品固定放在某个位置而引入可能的系统性误差。

7、加入染色工作液后，由于溶液蒸发或其它未知原因等因素，可能会有结晶形成而影响观察和拍摄，此时建议吸除染色工作液，加入适量 70%乙醇进行洗涤，70%乙醇可在短时间内溶解结晶，待结晶溶解消失后再更换成 PBS 或生理盐水。70%乙醇的洗涤对染色效果没有任何影响。

8、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

9、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 保存条件：

-20℃避光保存，有效期 1 年。

