

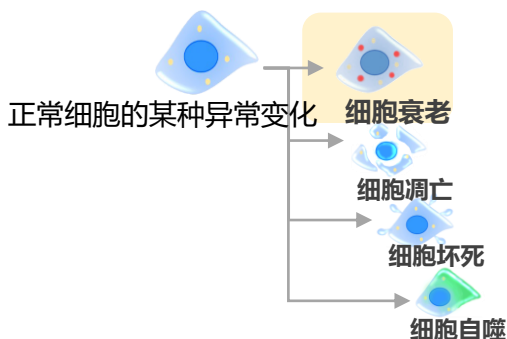
# 可以定量检测 衰老细胞的试剂盒

## Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal

### 针对初次做衰老细胞检测的研究者

可以快速、定量检测活细胞和固定细胞的衰老细胞检测试剂盒

## 很多研究者关注细胞衰老方面研究的理由是??



## 细胞衰老方面研究的现状

细胞凋亡、细胞坏死及细胞自噬具有控制细胞生存及死亡的功能，对了解细胞的各种机能非常重要。

其中近几年发现了细胞衰老及具有致癌因子的衰老相关分泌表型 (SASP)。在干细胞等领域均发现有衰老现象，在各领域的衰老研究受到越来越多的重视。

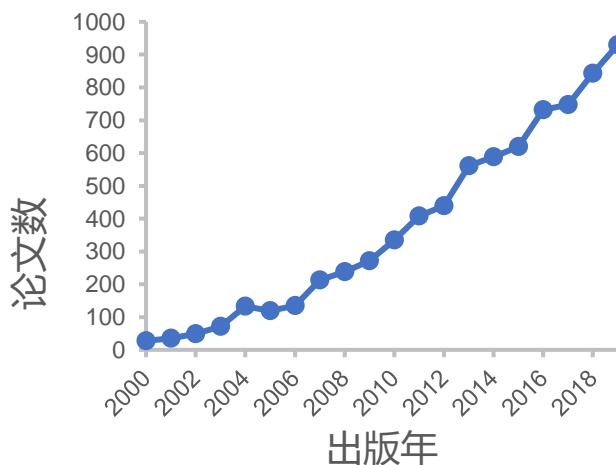
## 衰老细胞的检测指标

### 衰老细胞标识物

- SA-β-Gal (senescence-associated beta-galactosidase)
- CDKis (cyclin-dependent kinase inhibitor) ex. p16, p21 .etc
- p53 gene
- SASP (Senescence-Associated Secretory Phenotyp) ex. IL6, IL8 .etc
- DDR (DNA damage response) ex. γ-H2AX, ATM, .etc
- 其他

检测细胞衰老时需要检测几种衰老标识物。左侧为经常检测的几种衰老细胞标识物。其中SA-β-Gal由于检测简便，成为最常用的衰老细胞检测指标。本试剂盒只需在细胞中加入试剂，即可荧光成像和定量检测。

## SA-β-Gal文献数在快速增长



### 检测SA-β-Gal的代表性论文 DOI

### 论文链接

10.1038/cddiscovery.2017.75



10.1038/s41388-019-1080-3



10.1038/cddis.2017.153



10.1038/s41422-020-0314-9



10.1038/cddis.2017.1



本试剂盒与传统X-Gal法的比较

可以定量检测衰老细胞的试剂盒

# Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal

## 实验原理

正常细胞的DNA损伤是由细胞的不断分裂和氧化应激引起。在没有修复DNA损伤的情况下，为了抑制细胞的癌化，需要不可逆地终止DNA损伤细胞的分裂。细胞衰老是一种可以不可逆地终止DNA损伤细胞分裂的状态，它可以抑制DNA受损细胞的生长。SA-β-gal (细胞衰老β-半乳糖苷酶) 在衰老细胞中过表达，被广泛作为细胞衰老的标识之一。用X-gal染色检测SA-β-gal是一种常用的方法，但此方法存在几个缺点：1) 由于细胞透膜性差，需要固定细胞。2) 由于很难区分染色细胞和未染色细胞，所以定量困难。3) 染色时间长。

本试剂盒检测SA-β-gal灵敏度高，方法简便。SPiDER-βGal是一种检测β-gal的新型试剂，具有细胞透膜性高，胞内荧光维持时间长的特点。本试剂盒不仅可以特异性地检测到活细胞中的SA-β-gal (用Bafilomycin A1抑制内源性β-galactosidase的活性)，也可以检测到固定细胞中的SA-β-gal (用Mcllvaine缓冲液 (pH 6.0)。由于SPiDER-βGal和SA-β-gal反应后会产生很强且持续的荧光，因此SPiDER-βGal可被用于流式细胞仪来进行定量分析。

## 本试剂盒的优势

### 优势1. 活细胞和固定化细胞都可使用

		Young cells	Senescent cells
本试剂盒	活细胞		
	固定细胞		
X-Gal法	固定细胞		

▲ 内源性β-Gal  
 ▲ SA-β-Gal  
 ▲ 被抑制的β-Gal

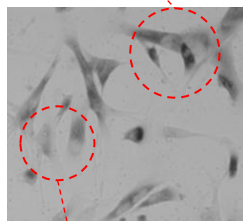
检测固定化细胞时，不需要添加Bafilomycin A1，按照说明书记载的操作流程检测SA-β-gal。

### 优势2. 可简便的进行定量

#### 传统方法(X-Gal法)

需要在显微镜下人工计数

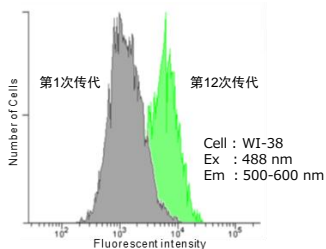
看不清楚有多少衰老细胞



很难区别阳性和阴性细胞

#### 流式定量(SG03)

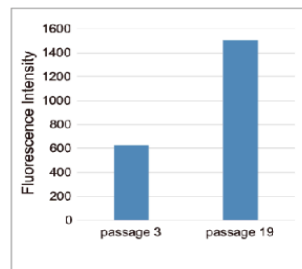
采用客观的分析方法



SG03 Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal

#### 酶标仪定量(SG05)

采用客观的分析方法



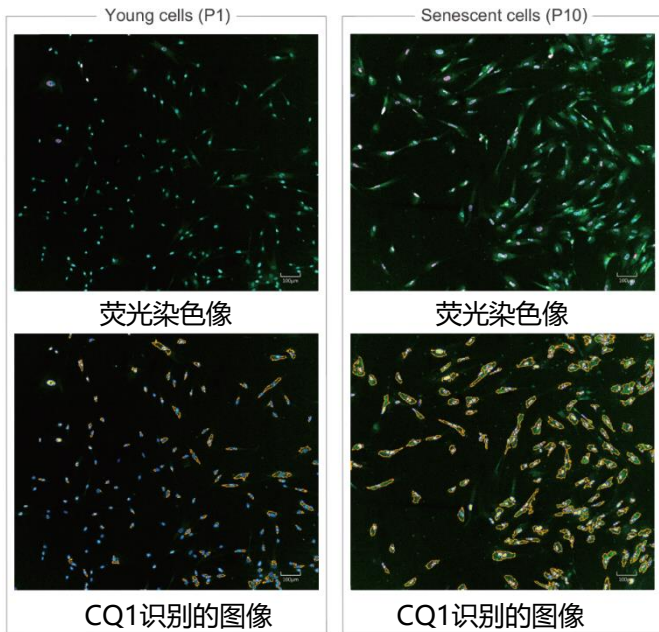
SG05 Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-βGal

## 实验例 1) 用共聚焦成像细胞仪进行定量

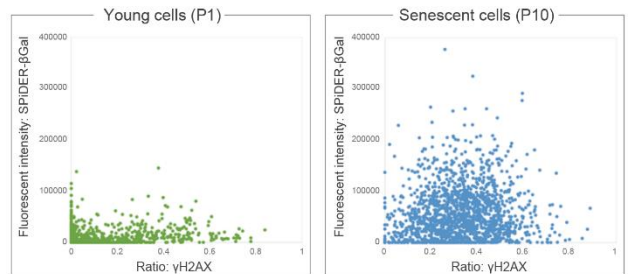
用共聚焦成像细胞仪（横河电机株式会社CQ1）进行衰老细胞定量分析。

### ■与其他细胞衰老标记物共染色

用SPiDER-βGal对SA-β-gal进行活细胞染色并进行细胞固定和膜透过处理后，对DNA损伤标志物γ-H2AX进行免疫荧光染色的WI-38细胞，通过共聚焦定量成像细胞仪进行定量和分析。



□横河电机CQ1拍摄条件  
 使用孔板：Chamber Slide  
 物镜：10倍  
 拍摄波长：  
 405 nm (DAPI)：Cyan  
 488 nm (SPiDER-βGa)：Green  
 640 nm (Alexa Fluor 647抗γ-H2AX)：Magenta  
 视野：6视野  
 解析领域的颜色：SA-β-gal阳性的WI-38细胞

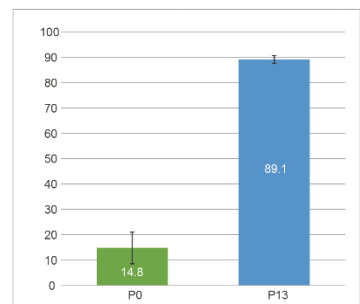
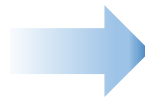
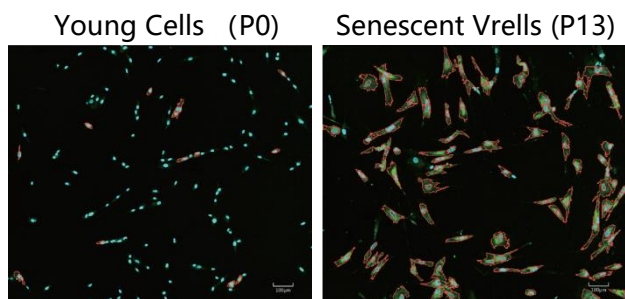


### □定量解析-散点图 (Scatter Plot)

使用SPiDER-βGal对SA-β-gal进行染色，其荧光强度作为Y轴，以γ-H2AX的面积与每个细胞核的面积比值作为X轴做成散点图的定量分析。

### ■活细胞荧光染色的分析

X-gal法需要用目视观察总细胞数和衰老细胞的个数，并人工计算衰老细胞的阳性比率。而使用共聚焦定量成像细胞仪时，用核染色剂 (Hoechst 33342) 来计数总细胞数，SPiDER-βGal对SA-β-gal进行染色来计算衰老细胞数，即可获得衰老细胞的阳性比率。

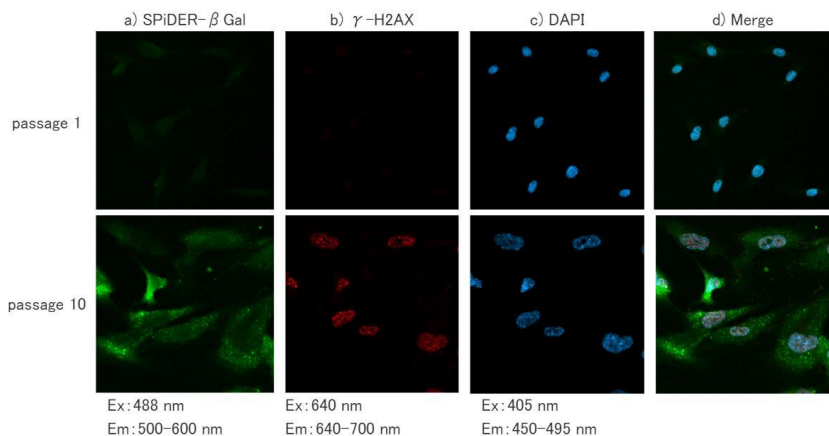


### □横河电机CQ01拍摄条件

使用孔板：96孔板  
 物镜：10倍  
 拍摄波长：405 nm (Hoechst 33342)：Cyan  
 488 nm (SPiDER-βGal)：Green  
 视野：8视野 \* SA-β-gal阳性WI-38细胞(红色轮廓)

□与需要人工目视的X-Gal法相比，使用共聚焦定量成像细胞仪可以更迅速准确地定量分析

## 实验例 2) 与其他细胞衰老标记物的共染色



左侧的实验是使用本试剂盒对细胞衰老的常用模型——多次传代的WI-38细胞(Passage 10)的SA-β-gal进行检测的实例<sup>a)</sup>。与其他的细胞衰老标记物γ-H2AX (DNA损伤标记物)的免疫染色<sup>b)</sup>，以及全细胞的核染色 (DAPI) <sup>c)</sup>。

SA-β-gal和γ-H2AX两种细胞衰老标记物的实验结果相关性得到了验证。<sup>d)</sup>

- 1) 将传代1次和10次的WI-38细胞按照本试剂盒的说明书的“活细胞检测”步骤进行SA-β-gal染色。
- 2) 添加4% PFA/PBS, 室温培养15 min。
- 3) PBS清洗细胞3次。
- 4) 加入0.1% Triton X-100/PBS, 室温培养30 min。
- 5) PBS清洗细胞3次。
- 6) 添加1% BSA/PBS, 室温培养 1 h。
- 7) 用1% BAS/PBS稀释过的抗γ-H2AX抗体 (兔源) 加入至细胞后, 4°C过夜培养。
- 8) PBS清洗细胞3次。
- 9) 用1% BAS/PBS稀释过的抗兔二抗 (Alexa Fluor 647) 加入至细胞后, 室温培养2 h。
- 10) PBS清洗细胞3次。
- 11) 用PBS稀释至2μg/ml的DAPI溶液[同仁货号: D523]加入到细胞中, 室温培养10 min。
- 12) PBS清洗细胞3次, 用激光共聚焦显微镜观察。

## 用本试剂盒发表的文献

细胞/组织/诱导条件	检测装置	货号	论文DOI	链接
MRC细胞 (人二倍体呈现为细胞) Heat Shock Protein 27 敲除	荧光显微镜	SG03	10.1074/jbc.RA118.003310	
A549细胞 (人肺癌上皮细胞) Pemetrexed(抗癌药)	显微镜/流式	SG03	10.18632/oncotarget.24704	
NHDF细胞 (人成纤维细胞) 100 μmol/l H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 1h处理	荧光显微镜	SG03	10.1007/s11418-018-1223-9	
高脂肪试剂/小鼠脂肪组织 糖尿病治疗药 (SGLT2抑制剂)	荧光显微镜	SG02	10.1038/s41514-017-0012-0	
6周和78周小鼠肠上皮	荧光显微镜	SG03	10.1038/s41514-018-0031-5	

产品	规格	货号
Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal	10 assays*	SG03
Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-βGal	20 tests / 100 tests	SG05

\*用35 mm dish的时候的assay数

东仁化学科技 (上海) 有限公司

北仁化学科技 (北京) 有限公司

如果您需要更多的信息或有任何问题可以通过以下方式联系我们：

上海  
上海市零陵路899号飞洲国际广场27楼J座  
邮编：200030  
电话：021-6427-2302

北京  
北京市朝阳区德外马甸裕民路12号元辰鑫大厦E1-210室  
邮编：100029  
电话：010-8225-1765