

（本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断！）

产品货号：E-BC-F086

产品规格：96T

检测仪器：流式细胞仪

Elabscience®细胞衰老荧光法测试盒

Cellular Senescence Fluorometric Assay Kit

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话：400-999-2100

邮箱：biochemical@elabscience.cn

网址：www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

用途

本试剂盒适用于检测细胞衰老相关 β -半乳糖苷酶（SA- β -gal）的活力。

检测原理

衰老相关 β -半乳糖苷酶（SA- β -gal）是细胞衰老的关键生物标志物，研究发现该酶活性在衰老细胞中显著升高，与溶酶体功能异常相关，常用于检测细胞衰老状态及研究衰老机制。

本试剂盒可通过便捷的荧光法检测细胞 SA- β -gal 的活力。探针可以通过细胞膜进入细胞内，SA- β -gal 水解探针发出荧光。用流式细胞仪检测荧光强度即可检测 SA- β -gal 的活力。

提供试剂和物品

编号	名称	规格 (Size)(96 T)	保存方式 (Storage)
试剂一 (Reagent 1)	巴夫洛霉素 A ₁ (Bafilomycin A ₁)	0.05 mL × 1 支	-20°C 避光 保存 6 个月
试剂二 (Reagent 2)	探针 (Probe)	0.05 mL × 1 支	-20°C 避光 保存 6 个月

说明：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。

对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。

所需自备物品

仪器：流式细胞仪（FITC 通道）、5% CO₂ 培养箱

试剂：完全培养基、1 × PBS（0.01M PBS，pH 7.4）

耗材：0.22 μ m 滤膜

试剂准备

① 检测前，试剂盒中的试剂平衡至室温(25°C)。

② 巴夫洛霉素A₁工作液的配制：

将试剂一：完全培养基按体积比=1：580，混合均匀后建议用0.22 μm滤膜过滤巴夫洛霉素A₁工作液，按需配制，避光保存8 h内使用完毕。

③ 探针工作液的配制：

将试剂二：完全培养基按体积比=1：2000（**可根据预实验结果，适当提高探针浓度**），混合均匀后建议用0.22 μm滤膜过滤探针工作液，按需配制，避光保存8 h内使用完毕。

实验关键点

① 进行细胞实验时，需要注意无菌操作。

② 处理贴壁细胞时，操作应缓慢吸打，减少细胞损失。

③ 正式实验前建议进行预实验，以便获得最佳的实验结果。

操作步骤

检测仪器部分参数设置	
流式细胞仪	Ex/Em: 488/538 nm FITC 通道

悬浮细胞：根据实验设计进行细胞过夜培养，确保细胞健康且不会过度生长。

收集细胞，4°C，500 × g 离心 3 min，弃去上清液，用完全培养基重悬细胞，建议细胞密度为 2×10^5 个/mL，如 2×10^5 个细胞，用 1 mL 完全培养基重悬。设计阴性对照与实验组，将细胞悬液加入到相应的 EP 管中，每管加入 500 μL 细胞悬液。

- ① 阴性对照和实验组：缓慢加入 20 μL 巴夫洛霉素 A₁ 工作液混匀。
- ② 于 37°C，5% CO₂ 培养箱内培养 30 - 60 min(可根据细胞数和细胞种类调整孵育时间)。
- ③ 阴性对照和实验组：500 × g 离心 3 min，弃去上清液，加入 500 μL 探针工作液重悬。
- ④ 于 37°C，5% CO₂ 培养箱内培养 30 - 60 min(可根据预实验结果调整孵育时间)。
- ⑤ 将阴性对照和实验组 500 × g 离心 3 min，弃去上清液，加入 500 μL PBS 洗涤 1 次。
- ⑥ 将阴性对照和实验组 500 × g 离心 3 min，弃去上清液，加入 300 μL PBS 重悬。
- ⑦ 流式细胞仪检测：上样量至少为 1×10^4 个细胞，流式细胞仪设置 FITC 通道进行检测。

贴壁细胞：根据实验要求设置 24 孔细胞板，建议每孔细胞不低于 5×10^4 个，每孔体积为 500 μL ，接种细胞后，在 37°C ，5 % CO_2 培养箱中过夜培养。

- ① 阴性对照和实验组：缓慢加入 20 μL 巴夫洛霉素 A_1 工作液。
- ② 于 37°C ，5% CO_2 培养箱内培养 30 - 60 min(可根据细胞数和细胞种类调整孵育时间)。
- ③ 阴性对照和实验组：小心吸去培养基，缓慢加入 500 μL 探针工作液。
- ④ 于 37°C ，5% CO_2 培养箱内培养 30 - 60 min(可根据预实验结果调整孵育时间)。
- ⑤ 小心吸去培养基，加入 500 μL PBS 洗涤 1 次。
- ⑥ 小心吸去 PBS，消化细胞后，加入完全培养基，500 $\times$ g 离心 3 min，弃去上清液，加入 300 μL PBS 重悬。
- ⑦ 流式细胞仪检测：上样量至少为 1×10^4 个细胞，流式细胞仪设置 FITC 通道进行检测。

附录1 问题答疑

问题	可能原因	建议解决方案
荧光强度低	细胞密度过低或过高	增加或减少细胞密度
	孵育时间不够	适当增加孵育时间

声明

1. 试剂盒仅供研究使用，如将其用于临床诊断或任何其他用途，我公司将不对因此产生的问题负责，亦不承担任何法律责任。
2. 实验前请仔细阅读说明书并调整好仪器，严格按照说明书进行实验。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 试剂盒检测范围不等于样本中待测物的浓度范围。如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩。
5. 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议先做预实验验证其检测有效性。
6. 最终的实验结果与试剂的有效性、实验者的相关操作以及实验环境等因素密切相关。本公司只对试剂盒本身负责，不对因使用试剂盒所造成的样本消耗负责，使用前请充分考虑样本可能的使用量，预留充足的样本。

