

細胞衰老 老化研究

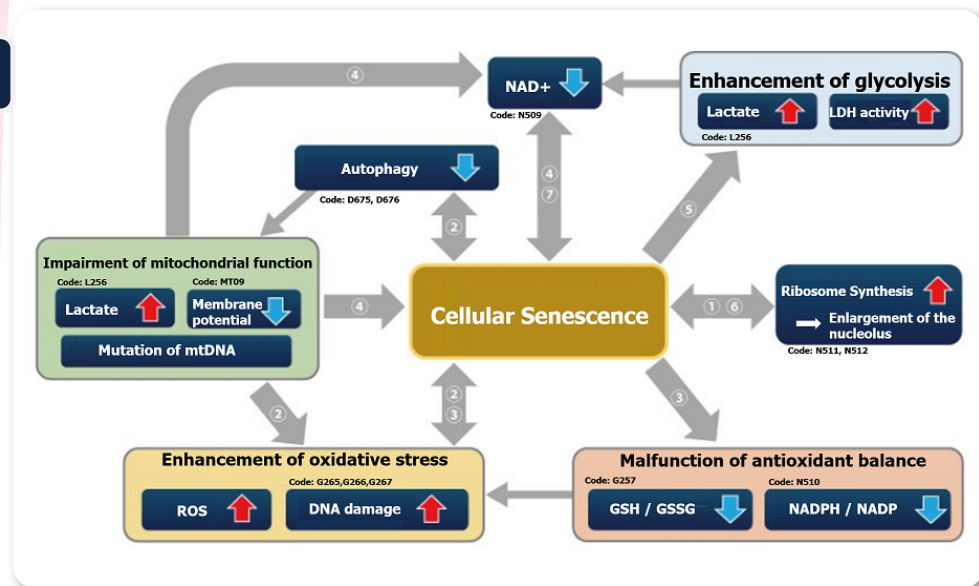
Cellular Senescence Detection



細胞衰老及相關指標關係

控制細胞存活和死亡的細胞凋亡、壞死、自噬和細胞衰老對於理解細胞內功能非常重要。其中，細胞衰老在各個領域都被認為是重要的，如衰老細胞會分泌許多老化關聯分泌因子，這些明顯增加的表型，稱為**衰老相關的分泌表型 (SASP)**，會促進周邊細胞發炎甚至促進癌細胞擴散。細胞衰老與人體的代謝異常、免疫失調、神經疾病以及癌症有關。

Dojindo公司提供一系列評估檢測細胞代謝，粒線體，氧化，脂肪油滴及自噬研究產品，更多資訊請洽富利瀚公司。



Dojindo的細胞衰老檢測產品選擇比較

| 產品 | DNA Damage Detection Kit - γ H2AX 細胞DNA損傷檢測組 | Nucleolus Bright Green / Red 核仁螢光染劑 | Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER- β Gal 細胞衰老檢測試劑盒 | Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER- β Gal 細胞衰老盤式定量盒 |
|--------------|---|--|--|--|
| 貨號 | Green: G265 Red: G266 Deep Red: G267 | Green: N511 Red: N512 | SG03 | SG05 |
| 偵測法 | 螢光 | 螢光 | 螢光 | 螢光 |
| 螢光波段 (Ex/Em) | Green: 494 nm / 518 nm Red: 550 nm / 566 nm Deep Red: 646 nm / 668 nm | Green: 513 nm / 538 nm Red: 537 nm / 605 nm | 500 - 540 nm / 530 - 570 nm | 535 nm / 580 nm |
| 偵測指標 | DNA損傷的變化 | Nucleolus核仁的變化 | SA- β -gal activity | SA- β -gal activity |
| 偵測方式 | 影像偵測 利用螢光二級抗體偵測 γ H2AX | 影像偵測 利用RNA螢光染劑 高專一性地染色核仁內的RNA | 影像偵測 利用SPiDER- β Gal與 SA- β -gal反應後產生螢光 | 盤式偵測 利用SPiDER- β Gal與 SA- β -gal反應後產生螢光 |
| 儀器 | 螢光顯微鏡 | 螢光顯微鏡 | 螢光顯微鏡 流式細胞儀 | 螢光盤式定量 |
| 可偵測樣品 | 固定細胞 | 固定細胞 | 活/固定細胞 | 活細胞(Lysis of live cells) |
| 結果 | | | | |



細胞DNA損傷檢測組

DNA Damage Detection Kit - γ H2AX – Green

DNA Damage Detection Kit - γ H2AX – Red

DNA Damage Detection Kit - γ H2AX – Deep Red

DNA損傷檢測原理

當DNA損傷導致雙鏈斷裂時，H2AX(一種組蛋白)會迅速而廣泛地磷酸化。由於**磷酸化H2AX(γ H2AX)**是DNA損傷的敏感指標物，因此可應用於化學物質、活性氧、紫外線和輻射的遺傳毒性和致癌性的評估指標。

近年來， γ H2AX也常當作評估細胞衰老的指標。本產品即利用二抗法輕鬆檢測DNA損傷的指標- γ H2AX



產品特色：

使用方便

產品已含所需試劑

三色螢光選擇
共染選擇更彈性

操作簡單

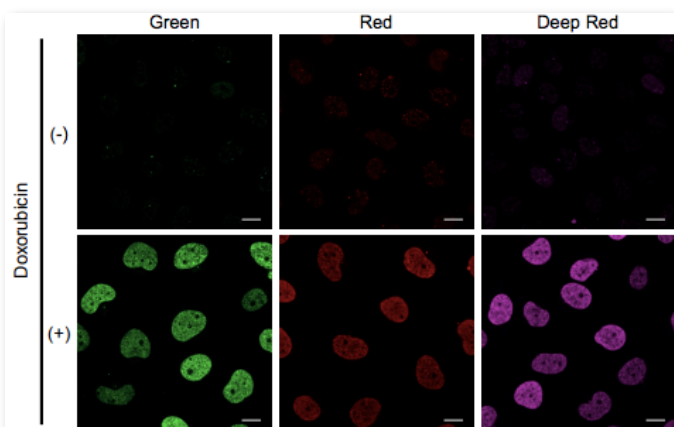
細胞固定與膜通透後
加入抗體及清洗即可

產品內容物包含：

- Anti γ H2AX antibody(Host: Mouse) \times 1
- Secondary antibody – Green or Red or Deep Red(Host: Goat) \times 1
- Blocking Solution 22 ml \times 1

- ✓ 由於本產品使用小鼠來源的一抗，因此在對其他抗原進行共染色時，請選擇小鼠來源以外的一抗。
- ✓ 小鼠組織不能用於組織染色。當小鼠組織被染色時，抗小鼠抗體(螢光標記的二抗)會導致對小鼠組織中 IgG 的非特异性吸附，從而增加背景值。

檢測經doxorubicin處理過的Hela細胞內 γ H2AX



偵測條件：

Green

Ex/Em = 488 nm / 500-550 nm

Red

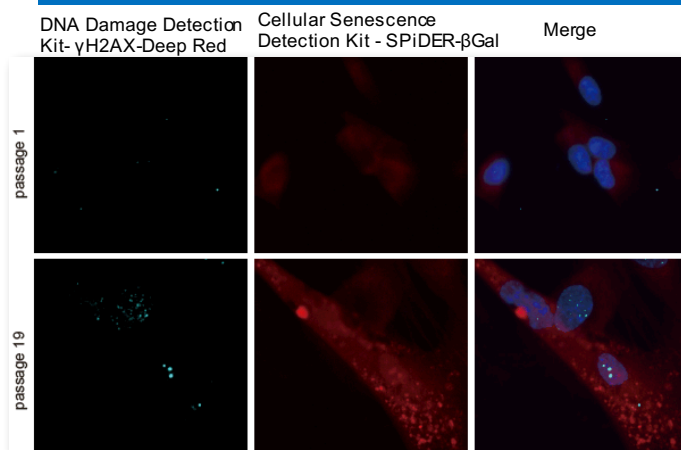
Ex/Em = 561 nm / 570-620 nm

Deep Red

Ex/Em = 640 nm / 650-700 nm

Scale bars 20 μ m

使用不同細胞衰老指標產品組合評估



染色條件：

將不同繼代數的WI-38細胞固定化後，用Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER- β Gal(SG03)染色。
使用 0.1% Triton-X/PBS 進行膜滲透處理後，使用DNA Damage Detection Kit- γ H2AX-Deep Red 染色 γ H2AX。

偵測條件：

H2AX (**Deep Red**) :

Ex. 590-650 nm / Em. 663-738 nm

SA- β -gal :

Ex. 533-557 nm / Em. 570-640 nm

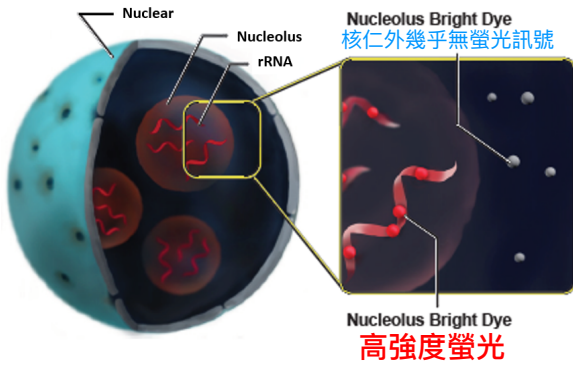
DAPI :

Ex. 340-380 nm / Em. 435-485 nm

| 品名 | 貨號 | 螢光波段 | 每組kit反應數 |
|---|------|-------------------------|---|
| DNA Damage Detection Kit - γ H2AX – Green | G265 | Ex. 495 nm / Em. 518 nm | 染色量 100 μ L約可做50次 染色量 200 μ L約可做 25次 染色量 2 mL約可做 2次 |
| DNA Damage Detection Kit - γ H2AX – Red | G266 | Ex. 550 nm / Em. 566 nm | |
| DNA Damage Detection Kit - γ H2AX – Deep Red | G267 | Ex. 646 nm / Em. 668 nm | |

細胞核仁螢光染劑

Nucleolus Bright – Green / Red

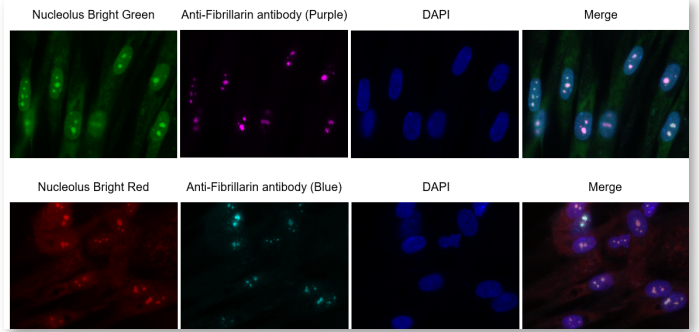


專一性高
可高度染色核仁

操作簡易
只需將試劑添加到
固定的細胞中

檢測核仁
衰老指標之一

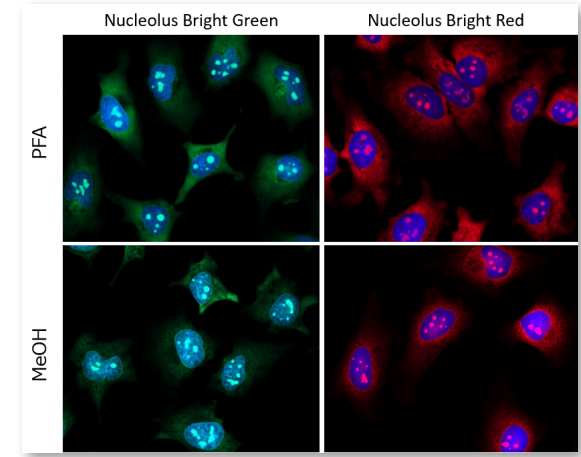
細胞核仁螢光定位



核仁螢光偵測原理

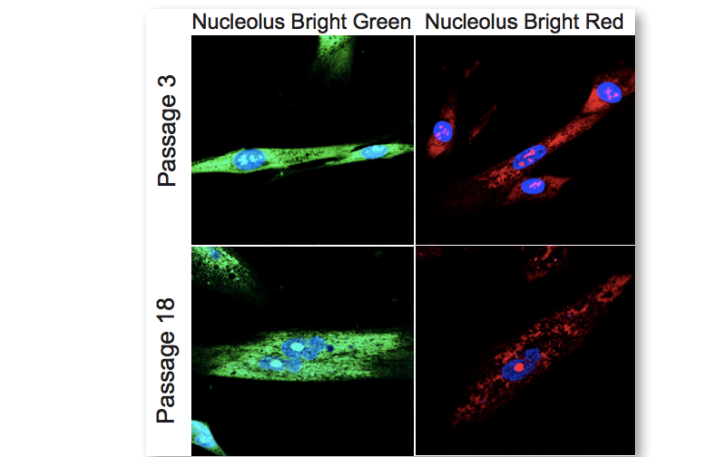
核仁中有許多核糖體RNA(rRNA)，進行rRNA的轉錄和加工。核仁的形態與結構的變化被認為是癌症診斷的指標之一，也與DNA損傷、自噬、病毒感染和細胞衰老有關係。Nucleolus Bright染劑會與核仁內的rRNA結合發出強烈螢光(與核外RNA結合的螢光很弱)。染色後，無需任何清洗步驟，即可觀察到核仁。建議與DAPI共同染色，以便清晰地觀察核仁型態與結構影像。

固定細胞後觀察核仁



用 4% PFA 或 MeOH 固定 HeLa 細胞後，用 PBS 清洗細胞，然後用 1% Triton X-100 進行膜通透。添加 Nucleolus Bright Red(N512) 或Nucleolus Bright Green(N511) 和核染劑DAPI，並使用共聚焦顯微鏡觀察影像。
觀察到 DAPI 染色的細胞核(藍色)中有幾個核仁。

在衰老細胞中檢測核仁形態變化



不同繼代的WI-38細胞，用4% PFA固定並用PBS清洗。然後用 1% Triton X-100 滲透細胞膜。添加Nucleolus Bright Red(N512) 或Nucleolus Bright Green(N511) 和核染劑DAPI並使用共聚焦顯微鏡觀察影像。
可觀察年輕與老化細胞中的核仁型態差異

| 品名 | 包裝 | 貨號 | MeOH固定細胞後染色 | PFA固定細胞後染色 | 螢光波段 | 可反應數 |
|-------------------------------|-------------|------|-------------|------------|-----------------------------|----------------------|
| Nucleolus Bright Green | 60 nmol x 1 | N511 | ○ | ○ | Ex. 488 nm / Em. 500-600 nm | 30 次反應 (35 mm培養盤) |
| Nucleolus Bright Red | 60 nmol x 1 | N512 | ○ | ○ | Ex. 561 nm / Em. 565-650 nm | |

細胞衰老/老化

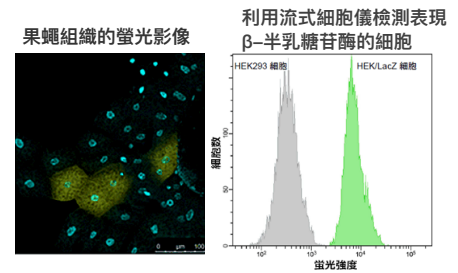
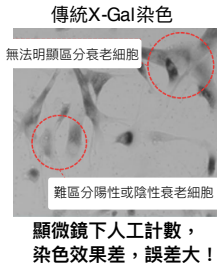
螢光檢測定量試劑



- SPiDER-βGal
- Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal
- Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-βGal

SPiDER-βGal 細胞組織衰老檢測螢光試劑

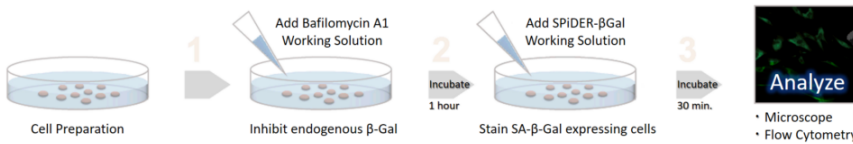
- 貨號：SG02, 包裝：20 μg×3
- SPiDER-βGal是一種檢測β-galactosidase的新型試劑，具細胞滲透性高和可長時間保留在細胞內特性(較X-Gal更適合檢測SA-β-gal)
- 適用於活細胞和組織(如小鼠及果蠅組織)
- 單細胞分辨率下檢測β-半乳糖苷酶
- Ex/Em: 493,525nm / 560nm



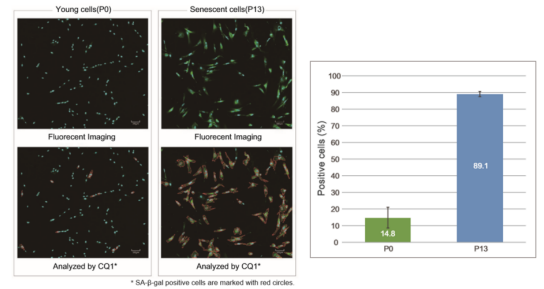
利用螢光顯微鏡或流式細胞儀，染色觀察細胞及組織內β-Galactosidase

Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal 細胞衰老檢測試劑盒

- 貨號：SG03, 包裝：10 assays(3.5cm dish)
- 相較傳統的X-gal，更能精準定量衰老細胞(Senescence Cell)
- 染色30分鐘即可檢測活細胞和固定細胞中的SA-β-gal活性
- 內含：SPiDER-βGal及Bafilomycin A1 - Bafilomycin A1, 可抑制細胞內源性的βGal, 而能選擇性檢測老化細胞的指標SA-β-gal
- Ex/Em: 500-540nm / 530-570nm



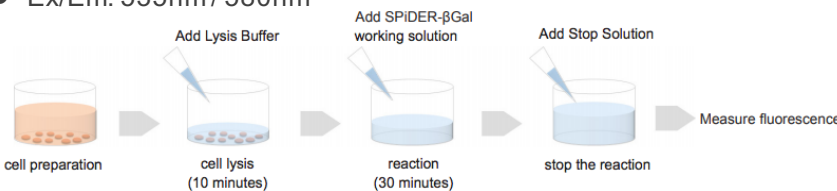
利用SG03染色WI-38細胞再以儀器自動分析：SA-β-gal陽性細胞比例隨繼代次數而增加。相較於使用X-gal染色手動計數，使用共聚焦定量圖像細胞儀(confocal quantitative image cytometer CQ1)可以快速分析衰老細胞數據



利用螢光顯微鏡或流式細胞儀，得到高靈敏度的SA-β-gal影像或定量分析細胞內SA-β-gal的活性

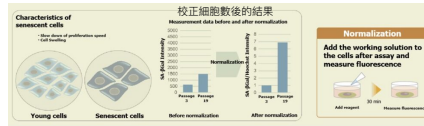
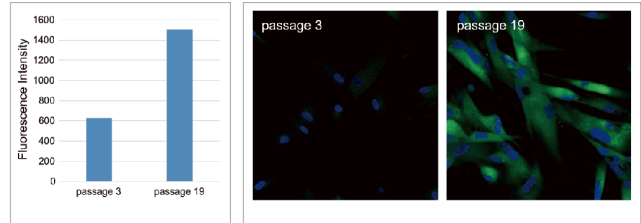
Cellular Senescence Plate Assay Kit – SPiDER-βGal 細胞衰老盤式定量盒

- 貨號：SG05, 包裝：100 assays
- Senescence Cell Detection (for Microplate)針對多樣品螢光盤式偵測衰老細胞
- 適用活細胞(lysis of live cells)
- 內含：SPiDER-βGal, Lysis Buffer, Assay Buffer, Stop Solution
- Ex/Em: 535nm / 580nm



簡單操作後利用plate reader，可高通量定量細胞內SA-β-gal的活性

細胞衰老盤式定量盒(SG05)和細胞衰老檢測定量盒(SG03)對不同繼代次數的WI-38細胞進行分析，SA-β-gal結果一致都增加



可搭配使用
細胞數校正套組
Cell Count Normalization Kit #C544
來簡易的校正細胞數目差異，得到更精準的結果