

AO/EB 双荧光染色试剂盒

产品简介:

细胞凋亡(Apoptosis)的检测方法有形态学、生物化学、DNA 片段化检测方法以及 TUNEL 等标记片段化 DNA 方法,但从细胞凋亡概念产生的历史及准确性方面考虑,使用显微镜进行的形态学观察也是很重要的。细胞死亡的检测可以通过荧光色素染色区分活细胞、死细胞,测定细胞代谢活性和形态学观察。这些方法都是利用细胞凋亡这种情况进行测定的,因而不一定反映实际情况,MTT 法是测定线粒体中特有酶的活性,反映细胞数目的变化,其结果与细胞死亡的数目未必完全一致。

Acridine Orange 属于三环杂芳香燃料,可以标记 DNA、RNA,属于异染性荧光染料, AO 常用于细胞内 DNA 和 RNA 进行检测, AO 与核酸结合方式主要有: 1、插入性结合, AO 嵌入核酸双链的碱基对之间,这种结合方式主要为 AO 与 DNA 的结合,其荧光发射峰为 530nm,激发后呈绿色荧光; 2、静电吸引,带正电荷的 AO 与单链核酸的磷酸根(带负电荷)产生静电间的吸引结合,这种结合方式主要为 AO 与 RNA 的结合,其荧光发射峰为640nm,激发后呈红色荧光,少量结合会呈桔黄色或桔红色荧光。因此 AO 嵌合到双链 DNA 分子中显绿色,与 DNA 单链或 RNA 结合时发橙红色荧光; Ethidium Bromide 嵌合到双链 DNA 或 RNA 的碱基对中,无碱基特异性,发红色荧光; AO 可透过活细胞膜, EB 不能通过与活细胞膜具有相同通透性的细胞膜。

产品组成:

名称	编号	CA1140	Storage
试剂(A): AO Solution		100T	
试剂(B): EB Solution		200µl	4°C 避光
试剂(C): AO/EB Dilution Buffer		200µl	RT
		50ml	4°C 避光
使用说明书			1 份

自备材料:

- 1、 荧光显微镜
- 2、 PBS
- 3、 细胞计数板
- 4、 载玻片、盖玻片

操作步骤(仅供参考):

- 1、 收集细胞,用 PBS 清洗细胞 1 次,加入适量的 PBS 重悬细胞,计数并调节细胞浓度至 $(0.2\sim 5)\times 10^6/\text{ml}$ 。
- 2、 配制 AO/EB 工作液: 取适量的试剂(A)、试剂(B)、试剂(C),按照试剂(A):试剂(B):试剂(C)=1:1:8 的比例稀配制成 AO/EB 工作液。
- 3、 每 25~50µl 细胞悬液中加入 AO/EB 工作液 2µl,混合均匀,试问孵育 5~15min。
- 4、 取洁净载玻片,滴加上 5~10µl 细胞悬液,轻轻盖上盖玻片。
- 5、 在荧光显微镜 B 域进行观察。

染色结果:

活细胞	绿色荧光
死细胞	橙色荧光

注意事项:

- 1、用能通过活细胞膜与 DNA 结合后发蓝色荧光的 Hoechst 33342 和只能通过死细胞与 DNA 结合后发红色荧光的 Propidium Iodide 对细胞进行双染的方法也比较常用。
- 2、如有低温离心机进行离心效果更佳。
- 3、操作过程中应注意减少试剂(A)、试剂(B)暴露于强光下的时间。
- 4、EB Solution 有一定毒性, 请小心操作。
- 5、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。