



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

AO 荧光染色试剂盒

简介:

Acridine Orange(AO)属于三环杂芳香燃料,可以标记 DNA、RNA,属于异染性荧光染料。该染料具有膜通透性,能透过细胞膜,使核 DNA 和 RNA 染色,因此 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,因此吖啶橙嵌合到双链 DNA 分子中显绿色,与 DNA 单链或 RNA 结合时发桔黄色或橙红色荧光。

源叶生物 AO 染色试剂盒(Acridine Orange Detection Kit)主要由 AO Stain、AO Stain Buffer 组成,常用于细胞凋亡的检测,染色后在荧光显微镜下观察,吖啶橙可透过正常细胞膜,使细胞核呈绿色或黄绿色均匀荧光;而在凋亡细胞中因染色质固缩或断裂为大小不等的片断,形成凋亡小体。AO 使其染上致密浓染的黄绿色荧光或黄绿色碎片颗粒,而坏死细胞黄荧光减弱甚至消失,AO 染色常与 EB 染色合用双染,EB 只染死细胞使之产生桔黄色荧光,由此可区分出正常细胞、凋亡细胞及坏死细胞。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

组成:

名称 \ 编号	R20291	Storage
试剂(A): AO Stain	100T 500μl	4°C 避光
试剂(B): AO Stain Buffer(10×)	10ml	4°C
使用说明书	1 份	

自备材料:

- 1、荧光显微镜
- 2、低速离心机
- 3、PBS
- 4、细胞计数板
- 5、载玻片、盖玻片

操作步骤(仅供参考):

(一) AO 单独染色

1、收集细胞(采用流式细胞仪检测时,应先固定细胞),用 AO Stain Buffer(1×)清洗细胞 1 次,加入适量的 AO Stain Buffer(1×)重悬细胞,计数并调节细胞浓度至 $10^6/\text{ml}$ 。

2、取适量的细胞悬液和 AO Stain,按照细胞悬液:AO Stain=19:1 的比例混合,轻轻混匀,如果采用荧光显微镜下观察,一般取 $95\mu\text{l}$ 细胞悬液和 $5\mu\text{l}$ AO Stain 混合即可。

3、室温避光染色 15min,滴加于载玻片上并加盖玻片或上流式细胞仪分析。

4、荧光显微镜下观察(激发滤光片波长 488nm,阻断滤光片波长 515nm),计数并拍照。

染色结果:

正常细胞	细胞被均匀染成黄绿色荧光
凋亡细胞	染色质浓缩,细胞核碎裂成点状,被染成大小不一、致密浓染的绿色颗粒

(二) AO/EB 双染色

1、收集细胞,用 AO Stain Buffer(1×)清洗细胞 1 次,加入适量的 AO Stain Buffer(1×)重悬细胞,计数并调节细胞浓度至 $10^6/\text{ml}$ 。

2、取适量的细胞悬液和 AO Stain,按照细胞悬液:AO Stain=19:1 的比例



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

混合，并加入适量 EB 染色液，轻轻混匀，如果采用荧光显微镜下观察，一般取 95 μ l 细胞悬液和 5 μ l AO Stain 混合即可。

- 3、室温避光染色 15min，滴加于载玻片上并加盖玻片
- 4、荧光显微镜滤光片 515nm 观察，计数并拍照。

染色结果：

正常细胞	均匀染成绿色荧光
坏死细胞	细胞桔黄色荧光
凋亡细胞	染色质浓缩，细胞核碎裂，被染成大小不一、致密浓染的黄绿色颗粒或见胞质芽状突起。

计算细胞凋亡率和死亡率：

$$\text{细胞凋亡率} = \frac{\text{凋亡细胞}}{\text{细胞总数}} \times 100\% \quad \text{细胞坏死率} = \frac{\text{坏死细胞}}{\text{细胞总数}} \times 100\%$$

注意事项：

- 1、AO 染色常与 EB 染色合用，可区分出正常细胞、凋亡细胞及坏死细胞。
- 2、如有低温离心机进行离心效果更佳，同时应注意减少试剂暴露于强光下的时间。
- 3、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期： 6 个月有效。