



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/EB 双荧光染色试剂盒

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。

吖啶橙(Acridine Orange, AO)属于三环杂芳香染料,具有膜通透性,能透过细胞膜,使核 DNA 和 RNA 染色,属于异染性荧光染料。AO 激发波长为 488nm,吸收波长为 515nm。AO 与细胞内 DNA 和 RNA 结合量有差别,结合产物发出不同的荧光颜色:双链 DNA 与 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。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。



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

组成:

| 名称 \ 编号 | R20292 100T | Storage |
|------------------------------|----------------|---------|
| 试剂(A): AO Solution | 200μl | 4℃ 避光 |
| 试剂(B): EB Solution | 200μl | RT |
| 试剂(C): AO/EB Dilution Buffer | 50ml | 4℃ 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 $(0.2\sim5)\times 10^6/\text{ml}$ 。
- 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, 室温孵育 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 |



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

注意事项:

1、用能通过活细胞膜与 DNA 结合后发蓝色荧光的 Hoechst33342 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。

有效期: 6个月有效; 4℃运输, 4℃保存。

