

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。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

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 $25 \sim 50 \mu\text{l}$ 细胞悬液中加入 AO/EB 工作液 $2 \mu\text{l}$, 混合均匀, 室温孵育 $5 \sim 15\text{min}$ 。
- 4、取洁净载玻片, 滴加上 $5 \sim 10 \mu\text{l}$ 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 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° C 运输，4° C 保存。