

## AO/PI 双染试剂盒



产品详情

产品货号	产品名称	储存条件	保质期
SQ1117	AO/PI 双染试剂盒	2-8℃避光	6个月

### 产品简介:

1. 萨默斯® Summus® AO/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒是采用 AO/PI 探针双染细胞核的方法检测凋亡细胞的状态，是细胞凋亡形态学研究常用的染色方法。
2. 吖啶橙(Acridine Orange, AO) 为一种具有细胞膜通透性的荧光染料，该染料能透过活细胞膜，使核 DNA 和 RNA 染色。它与细胞中 DNA 和 RNA 结合量存在差别，复合物可发出不同颜色的荧光，AO 与 dsDNA 结合时发出绿色荧光，而与 ssDNA 和 RNA 结合时发出红色荧光。当与 DNA 结合时，它与荧光素在光谱上非常相似，激发最大值为 502nm，发射最大值为 525nm(绿色)。当它与 RNA 结合时，激发最大值移至 460nm(蓝色)，发射最大值移至 650nm(红色)。
3. 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。吖啶橙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。
4. Propidi  $\mu$ m Iodide 是一种 DNA 结合性染料，其激发和发射波长分别为 488nm 和 630nm，产生红色荧光，但无膜通透性，不能透过活细胞膜，只能染死细胞。因此，在荧光显微镜下观察，正常细胞不能着色，早期凋亡细胞呈微弱红光，晚期凋亡细胞红光加强，坏死细胞呈强红色荧光。

### 检测方法:

1. 流式细胞仪
2. 激光共聚焦
3. 荧光显微镜

### 产品组成:

产品组成	100T	组分编号	储存条件
组分 A: AO 染色液	500 $\mu$ L	SQ1117A	2~8℃避光
组分 B: PI 染色液	1000 $\mu$ L	SQ1117B	2~8℃避光
组分 C: 试剂 C	10mL	SQ1117C	2~8℃避光

### 适用样本:

1. 悬浮细胞
2. 贴壁细胞

### 使用方法(仅供参考):

#### 耗材准备:

1. 离心管
2. 吸头
3. 一次性手套

#### 试剂准备:

1. PBS 缓冲液(pH7.4, 实验室常用的 10mM 磷酸缓冲盐溶液(1X))。
2. 或者 HBSS(Hank's Balanced Salt Solution)。

**染色工作液配制：**

1. 根据样品数，按下列比例配制染色缓冲液。取 100  $\mu$ L 试剂 C 用 900  $\mu$ L 纯水稀释，充分混匀即成染色缓冲液。

2. 每 500  $\mu$ L 染色缓冲液加入 5  $\mu$ L AO 染色液和 10  $\mu$ L PI 染色液，充分混匀，即成染色工作液。

注：不同细胞样本的染色浓度和时间有差异，可以根据预实验结果调整染液浓度。以上条件适合大多数细胞样本。

**悬浮细胞染色：**

1. 收集样本细胞，细胞数量在  $10 \times 10^5$  个以内。

2. 用 PBS 洗涤细胞两次。

3. 用 500  $\mu$ L 染色工作液将细胞重悬。

4. 轻轻混匀后 4℃ 避光孵育 10-20 分钟。

5. 用 PBS 洗涤细胞。

6. 用荧光显微镜或流式细胞仪检测结果。

**贴壁细胞原位染色：**

1. 用 PBS 洗涤细胞 2 次。

注：注意洗细胞过程不要丢失细胞，需要离心收集漂浮细胞。

2. 细胞培养板中或细胞爬片上加入适量体积的染色工作液。

3. 37℃ 孵育细胞 10~20 分钟，不同的细胞最佳培养时间不同。可以用 20 分钟作为起始孵育时间，之后优化体系以得到均一的标记结果。

注：若染色不够充分，建议增加染料浓度或延长染色时间。

4. 吸干染色工作液，用培养基洗培养板或盖玻片 2~3 次，每次用预热的培养基覆盖所有细胞，然后吸干培养基。

**结果分析：**

在荧光显微镜下，选用 488nm 激发光镜检：

AO 染色正常细胞 DNA 呈均匀黄色或黄绿色，形态结构正常。

当细胞凋亡时，染色质浓缩，细胞核碎裂成点状，被染成大小不一、致密浓染。

坏死细胞呈强红色荧光。

**注意事项：**

1. 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖内壁上的液体收集至管底，避免开盖时液体洒落。

2. 细胞处理需要小心操作，尽量避免人为的损伤细胞。

3. 本染色试剂盒可用于细胞、细胞涂片等。以下以悬浮培养细胞的荧光显微镜检测为例，其他方法请参阅相关资料。

4. 贴壁细胞可以消化下来染色，也可以直接原位染色。

5. 我司生产的生化试剂如无特殊标注，基本为非无菌包装，若用于细胞实验，请提前做好预处理。需低温保存的产品，一旦配成溶液，请分装保存，避免反复冻融造成的产品失效。

6. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。

7. 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。

北京伊事达科技有限公司

电话: 13564444959

官网: [www.followme-shop.com](http://www.followme-shop.com)

地址: 北京市海淀区东北旺西路 58 号尚科办公社区 C 区一楼



公众号

客服