

产品组成:

| 规格 | 100 assays |
|----------|------------|
| AO 染色液 A | 500ul |
| EB 染色液 B | 500ul |
| 试剂 C | 10ml |

储存条件:

A 液和 B 液-20℃避光保存。

C 液 2-8℃保存。

有效期: 一年。

产品简介:

AO/EB 双染细胞凋亡检测试剂盒是采用 DNA 探针双染细胞核的方法检测细胞的状态。吖啶橙 (AO) 具有膜通透性,能透过细胞膜,使核 DNA 和 RNA 染色。其激发波长为 488nm,吸收波长为 515nm。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,红色荧光为 AO-DNA($F > 600\text{nm}$),绿色荧光为 AO-RNA 或单链 DNA($F > 530\text{nm}$)。因此,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。吖啶橙 AO 常与溴化乙啶 EB 合用双染,因 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。

使用方法:

- 1、染色缓冲液的配制:根据样品数按下列比例配制染色缓冲液。取 100 μL 试剂 C 加 900 μl 无菌去离子水稀释,混匀即成染色缓冲液。
- 2、收集样本细胞,细胞数量在 10×10^5 个以内。
- 3、用 PBS 洗涤细胞两次。
- 4、用 500 μl 染色缓冲液将细胞重悬。
- 5、加入 5 μl AO 染色液 A。
- 6、加入 5 μl EB 染色液 B。
- 7、轻轻混匀后 4℃避光孵育 10-20 分钟。
- 8、用 PBS 洗涤细胞。
- 9、用荧光显微镜或流式细胞仪检测结果。AO-DNA 复合物的最大激发波长为 488nm,最大发射波长为 515nm,EB-DNA 复合物的最大激发和最大发射波长分别为 518nm 和 605nm。

结果分析:

正常活细胞的核染色质着绿色,形态结构正常;早期凋亡细胞的膜结构完整,核染色质着绿色,但核已开始固缩或呈串珠状;晚期凋亡细胞,核染色质发橙红色荧光,呈固缩状或串珠状,有时核碎裂散布于胞浆中;有时还可见到细胞核结构正常,但细胞着红色,为非凋亡的死亡细胞。