

## 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。

### 产品组成:

| 名称                           | 编号 | DA0039      | Storage           |
|------------------------------|----|-------------|-------------------|
|                              |    | 100T        |                   |
| 试剂(A): AO Solution           |    | 200 $\mu$ l | 4 $^{\circ}$ C 避光 |
| 试剂(B): EB Solution           |    | 200 $\mu$ l | 4 $^{\circ}$ C 避光 |
| 试剂(C): AO/EB Dilution Buffer |    | 50ml        | 4 $^{\circ}$ C    |
| 使用说明书                        |    |             | 1 份               |

### 自备材料:

- 1、荧光显微镜、低速离心机、细胞计数板、载玻片、盖玻片
- 2、PBS

### 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 25~50 $\mu$ l 细胞悬液中加入 AO/EB 工作液 2 $\mu$ l，混合均匀，室温孵育 5~15min。
- 4、取洁净载玻片，滴加上 5~10 $\mu$ 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、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 6、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：**12 个月有效；低温运输，4 $^{\circ}$ C 保存。

**相关产品：**

| 产品编号   | 产品名称                         |
|--------|------------------------------|
| CC0007 | 磷酸缓冲盐溶液(10 $\times$ PBS,无钙镁) |
| DA0001 | DAPI 染色液(5ug/ml)             |
| DA0020 | Hoechst33342/PI 细胞凋亡染色试剂盒    |
| DA0065 | 台盼蓝染色液(0.4%)                 |
| DC0032 | Masson 三色染色液                 |
| IH0252 | 荧光封片剂                        |
| NH0043 | SSC 缓冲液(20 $\times$ ,pH7.0)  |
| TC0699 | 植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)       |