货号：ZC-A4117　　规格：100T

AO 荧光染色试剂盒

产品简介：

Acridine Orange, AO 属于三环杂芳香燃料，可以标记 DNA、RNA，属于异染性荧光染料。该染料具有膜通透性，能透过细胞膜，使核 DNA 和 RNA 染色。因此 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，吖啶橙嵌合到双链 DNA 分子中显绿色，与 DNA 单链或 RNA 结合时发桔黄色或橙红色荧光。

AO 染色试剂盒(Acridine Orange Detection Kit)主要由 AO Stain、AO Stain Buffer 组成，常用于细胞凋亡的检测。染色后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。AO 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。AO 染色常与 EB 染色合用双染， 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。

产品组成：

编号 / 名称	ZC-A4117 100T	Storage
试剂(A): AO Stain	500μl	4℃ 避光
试剂(B): AO Stain Buffer(10×)	10ml	4℃
使用说明书	1 份	

自备材料：

1、　荧光显微镜
2、　低速离心机
3、　PBS
4、　细胞计数板
5、　载玻片、盖玻片

操作步骤(仅供参考)：

(一) AO 单独染色

1、 收集细胞(采用流式细胞仪检测时，应先固定细胞)，用 AO Stain Buffer(1×)清洗细胞 1 次，加入适量的 AO Stain Buffer(1×)重悬细胞，计数并调节细胞浓度至 10^6/ml。
2、 取适量的细胞悬液和 AO Stain，按照细胞悬液:AO Stain=19:1 的比例混合，轻轻混匀。如果采用荧光显微镜下观察，一般取 95μl 细胞悬液和 5μlAO Stain 混合即可。

3、 室温避光染色 15min，滴加于载玻片上并加盖玻片或上流式细胞仪分析。

4、 荧光显微镜下观察(激发滤光片波长 488nm，阻断滤光片波长 515nm)，计数并拍照。

染色结果

正常细胞	细胞被均匀染成黄绿色荧光
凋亡细胞	染色质浓缩，细胞核碎裂成点状，被染成大小不一、致密浓染的绿色颗粒

(二) AO/EB 双染色

1、 收集细胞，用 AO Stain Buffer(1×)清洗细胞 1 次，加入适量的 AO Stain Buffer(1×)重悬细胞，计数并调节细胞浓度至 10^6/ml。

2、 取适量的细胞悬液和 AO Stain，按照细胞悬液:AO Stain=19:1 的比例混合，并加入适量 EB 染色液，轻轻混匀。如果采用荧光显微镜下观察，一般取 95μl 细胞悬液和 5μl AO Stain 混合即可。

3、 室温避光染色 15min，滴加于载玻片上并加盖玻片

4、 荧光显微镜滤光片 515nm 观察，计数并拍照。

染色结果

正常细胞	均匀染成绿色荧光
坏死细胞	细胞桔黄色荧光
凋亡细胞	染色质浓缩，细胞核碎裂，被染成大小不一、致密浓染的黄绿色颗粒或见胞质芽状突起。

计算细胞凋亡率和死亡率:

$$细胞凋亡率 = \frac{凋亡细胞}{细胞总数} \times 100\% \qquad 细胞坏死率 = \frac{坏死细胞}{细胞总数} \times 100\%$$

注意事项：

1、 AO 染色常与 EB 染色合用，可区分出正常细胞、凋亡细胞及坏死细胞。

2、 如有低温离心机进行离心效果更佳，同时应注意减少试剂暴露于强光下的时间。

3、 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。