

货号：ZC-A4119

规格：100T

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。

产品组成：

名称 \ 编号	ZC-A4119 100T	Storage
试剂(A): AO Solution	200 μ l	4 $^{\circ}$ C 避光
试剂(B): EB Solution	200 μ l	RT
试剂(C): AO/EB Dilution Buffer	50ml	4 $^{\circ}$ C 避光
使用说明书	1 份	

自备材料：

- 1、 荧光显微镜、细胞计数板
- 2、 载玻片、盖玻片
- 3、 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(0.2~5) $\times 10^6$ /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 μ l 细胞悬液中加入 AO/EB 工作液 2 μ l，混合均匀，室温孵育 5~15min。
- 4、 取洁净载玻片，滴加 5~10 μ 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 Hoechst 33342 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。