

吖啶橙AO/EB双荧光染色试剂盒

吖啶橙(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, 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。

吖啶橙能透过胞膜完整的细胞, 嵌入细胞核DNA, 与双链DNA结合后发出绿色荧光, 溴化乙锭(EB)仅能透过胞膜受损的细胞, 嵌入核DNA, 发橘红色荧光。凋亡的细胞呈现为染色增强, 荧光更为明亮, 均匀的圆状或固缩状、团块状结构。非凋亡细胞核呈现荧光深浅不一的结构样特征。二者很容易判别。在荧光显微镜下观察, 可见四种细胞形态: 活细胞(VN), 核染色质着绿色并呈正常结构; 早期凋亡细胞(VA), 核染色质着绿色呈固缩状或圆珠状; 晚期凋亡细胞(NVA), 核染色质为橘红色并呈固缩状或圆珠状; 非凋亡的死亡细胞(NVN), 核染色质着橘红色并呈正常结构。本产品AO、EB溶液浓度分别为100ug/ml, 所含稳定剂不影响实验效果。

吖啶橙(AO)-EB双染色试剂盒使用方法: (仅供参考)

使用前先根据用量, 将AO溶液和EB溶液按1:1混合成工作液, 先用现配。

a)对于贴壁细胞或爬片, 去掉培养基, 用PBS洗两遍去除残余培养基和未贴壁细胞, 加入新的PBS; 如果需要观察全部细胞特性, 保留未贴壁细胞, 可以直接在培养基中加入工作液。按照每毫升培养基或PBS中加入20ul工作液即可。室温放置2-5min后于荧光显微镜下观察。

b)对于悬浮细胞, 可直接加入工作液或离心收集细胞后在PBS中加入工作液。按照每毫升培养基或PBS中加入20ul工作液即可。室温放置2-5min后于荧光显微镜下观察。

吖啶橙(AO)-EB双染色试剂盒注意事项:

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染色溶液暴露于强光下的时间。
4. 含酚红培养基对观察有轻微影响。建议使用无酚红培养基。
5. 染色液工作浓度和染色时间可根据具体实验情况适当调整, 以期达到佳效果。
6. EB和吖啶橙(Acridine Orange)有一定毒性, 请小心操作。所有产品仅限用于研发, 必须由专业技术人员操作同时佩戴口罩/手套/实验服并遵守生物实验室安全操作规程!

有效期： 4度密封避光12个月有效。

染色结果：

活细胞	绿色荧光
死细胞	橙色荧光

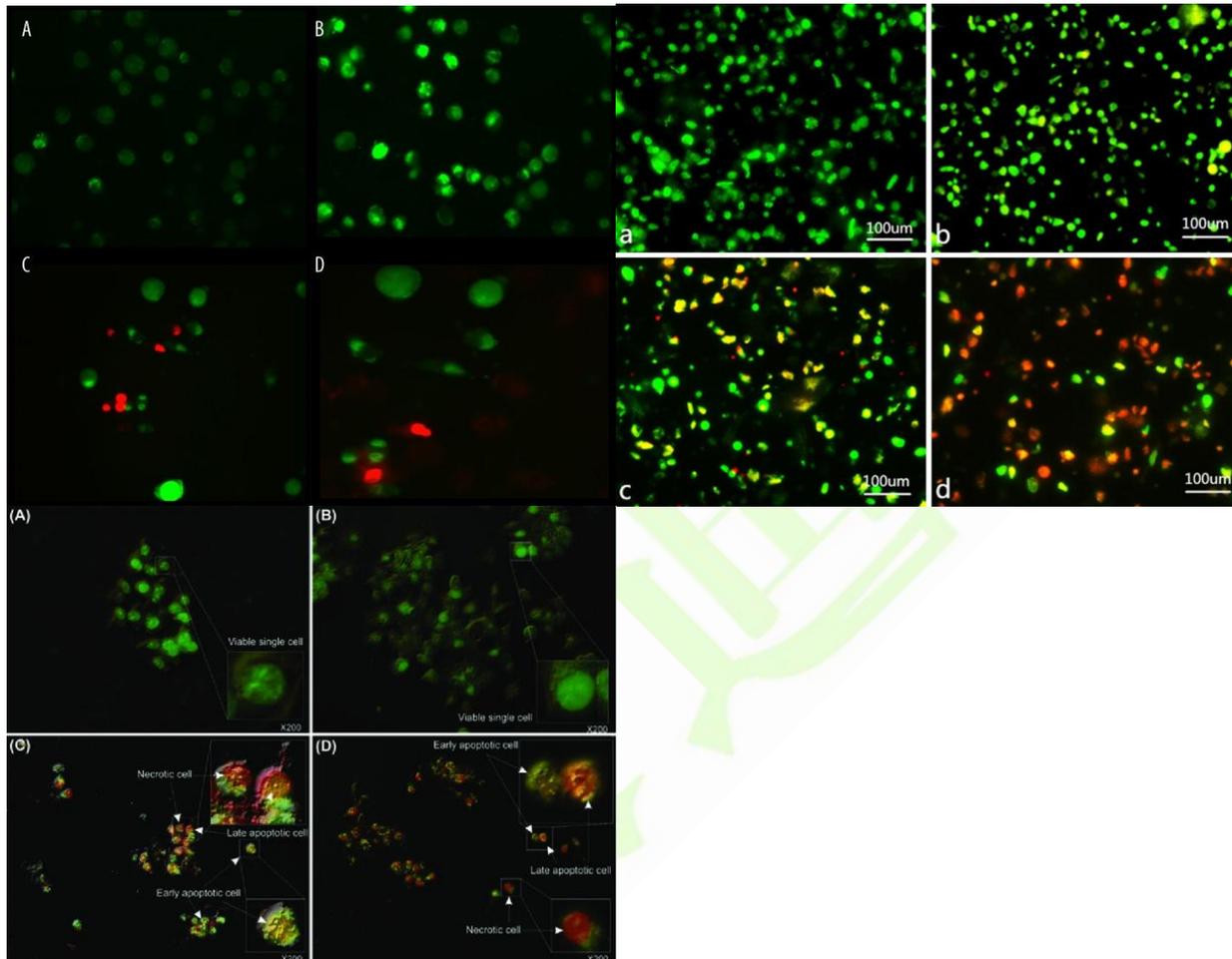


Fig. (A)阴性对照细胞（正常细胞）：环形细胞核均匀分布在细胞中央。

(B)实验组(早期凋亡细胞):吖啶橙（AO）染色后的细胞核呈黄绿色荧光，以月牙形或颗粒的形态聚集位于细胞的一边。

(C)实验组(晚期凋亡细胞):经EB染色后的细胞核呈橙红荧光，集中聚集且偏重定位。

(D)坏死细胞：坏死细胞体积增加，显示平整的橙红荧光和不清晰的轮廓。细胞正要溶解或接近崩溃。