

产品组成:

规格	100assays
AO 染色液	500ul
试剂 B	10ml

储存条件: -20℃避光保存。

有效期: 一年。

产品简介:

吖啶橙 (Acridine Orange, AO) 为一种荧光染料, 该染料具有膜通透性, 能透过细胞膜, 使核 DNA 和 RNA 染色。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 B 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 -1ml 染色缓冲液将细胞重悬, 使细胞浓度约 10^6 个/ml。

5、取 95ul 细胞悬液, 加入 5ul AO 染色液。

6、轻轻混匀后 4℃避光孵育 10-15 分钟。

7、滴加至载玻片上, 用盖玻片封片。

8、荧光显微镜检测结果。最大激发波长为 488nm。

结果分析 :

在荧光显微镜下, 选用 488nm 激发光镜检: AO 染色正常细胞 DNA 呈均匀黄色或黄绿色。当细胞凋亡时, 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或黄绿色碎片。