400-800-1076
0311-86261211
rptbio@163.com

AO/PI双染细胞凋亡检测试剂盒

货　　号：　RK1004

保存 温度:　2-8℃避光

有 效 期：　6 个月

适用 样本:　1.悬浮细胞
2.贴壁细胞

试剂盒组成：

组份编号	产品组成	100T	200T	储存条件
RK1004A	AO 染色液	500 μL	500 μL*2	2-8℃避光
RK1004B	PI 染色液	1000 μL	1000 μL*2	2-8℃避光
RK1004C	试剂 C	10 mL	20ml	2-8℃保存

自备仪器和试剂耗材：

试剂准备：	1.PBS 缓冲液（pH7.4，实验室常用的 10mM 磷酸缓冲盐溶液（1X）） 2.或者 HBSS（Hank's Balanced Salt Solution）
耗材准备：	1.离心管 2.吸头 3.一次性手套

产品简介：

Report AO/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒是采用 AO/PI 探针双染细胞核的方法检测凋亡细胞的状态，是细胞凋亡形态学研究常用的染色方法。

吖啶橙（Acridine Orange，AO）为一种具有细胞膜通透性的荧光染料，该染料能透过活细胞膜，使核DNA 和 RNA 染色。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，AO 与 dsDNA 结合时发出绿色荧光，而与 ssDNA 和 RNA 结合时发出红色荧光。当与 DNA 结合时，它与荧光素在光谱上非常相似，激发最大值为 502nm，发射最大值为 525nm（绿色）。当它与 RNA 结合时，激发最大值移至 460nm（蓝色），发射最大值移至 650nm（红色）。

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。

Propidium Iodide 是一种 DNA 结合性染料，其激发和发射波长分别为 488nm 和 630nm，产生红色荧光，但无膜通透性，不能透过活细胞膜，只能染死细胞。因此，在荧光显微镜下观察，正常细胞不能着色，早期凋亡细胞呈微弱红光，晚期凋亡细胞红光加强，坏死细胞呈强红色荧光。

400-800-1076
0311-86261211
rptbio@163.com

使用方法：

1.螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖内壁上的液体收集至管底，避免开盖时液体洒落。

2.细胞处理需要小心操作,尽量避免人为的损伤细胞。

3.本染色试剂盒可用于细胞、细胞涂片等。以下以悬浮培养细胞的荧光显微镜检测为例，其他方法请参阅相关资料。

4.贴壁细胞可以消化下来染色，也可以直接原位染色。

染色工作液配制：

1. 根据样品数，按下列比例配制染色缓冲液。 取 100μL 试剂 C 用 900μL 纯水稀释，充分混匀即成染色缓冲液。
2. 每 500μL 染色缓冲液加入 5ul AO 染色液和 10ul PI 染色液，充分混匀，即成染色工作液。

悬浮细胞染色

1. 收集样本细胞，细胞数量在 $10*10^5$个以内。
2. 用 PBS 洗涤细胞两次。
3. 用 500μL 染色工作液将细胞重悬。
4. 轻轻混匀后 4℃避光孵育 10-20 分钟。
5. 用 PBS 洗涤细胞。
6. 用荧光显微镜或流式细胞仪检测结果。

贴壁细胞原位染色;

1. 用 PBS 洗涤细胞 2 次。
2. 细胞培养板中或细胞爬片上加入适量体积的染色工作液。
3. 37 ℃孵育细胞 10～20 分钟，不同的细胞最佳培养时间不同。可以用 20 分钟作为起始孵育时间，之后优化体系以得到均一的标记结果。
4. 吸干染色工作液，用培养基洗培养板或盖玻片 2～3 次，每次用预热的培养基覆盖所有细胞，然后吸干培养基。

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，形态结构正常。

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。

坏死细胞呈强红色荧光。