

## A0 荧光染色试剂盒 使用说明书

产品编号: SL7652

储存条件: 2-8 °C 避光保存, 12 个月有效

产品组成:

名称	规格	Storage
试剂(A): AO Stain	500 $\mu$ L	4 °C 避光
试剂(B): AO buffer(10 $\times$ )	10 mL	4 °C
说明书	1 份	

产品介绍:

吖啶橙(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。

吖啶橙染色试剂盒(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。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。

自备材料:

荧光显微镜, 低速离心机, PBS, 细胞计数板, 载玻片、盖玻片。

**使用说明 (仅供参考):**

(一) A0 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 A0 Stain Buffer(1×)清洗细胞 1 次, 加入适量的 A0 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 A0 Stain, 按照细胞悬液: A0 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 95  $\mu$ L 细胞悬液和 5  $\mu$ L A0 Stain 混合即可。
3. 室温避光染色 15 min, 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) 与 EB 双染色:

1. 收集细胞, 用 A0 Stain Buffer(1×)清洗细胞 1 次, 加入适量的 A0 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 A0 Stain, 按照细胞悬液: A0 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 95  $\mu$ L 细胞悬液和 5  $\mu$ L A0 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:**

细胞死亡率=凋亡细胞/细胞总数 $\times$ 100%

细胞坏死率=坏死细胞/细胞总数 $\times$ 100%

**注意事项:**

1. 吖啶橙染色常不 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. 该培养基仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其它用途。
4. 操作过程中应注意减少试剂暴露于强光下的时间。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。