

吖啶橙(AO)染色液 使用说明书

产品编号：SL7651

保存条件：4°C储存，有效期 12 个月。

包装内容：

产品内容	SL7651
吖啶橙(AO)染色液（1mg/mL）	10ml
说明书	1 份

产品简介：

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。

吖啶橙染色液(1mg/ml)为储存液，使用时应稀释到合适浓度后使用。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，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。

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

操作步骤(仅供参考):

1. 收集细胞(采用流式细胞仪检测时, 应先固定细胞), 用 PBS 清洗细胞 1 次, 计数并调节细胞浓度至 $10^6/ml$ 。
2. 取适量的细胞悬液, 加入 Acridine Orange Stain(1mg/ml), 使 AO 终浓度为 $8.5\sim 17\mu g/ml$, 轻轻混匀。
3. 室温避光染色 $15\sim 20min$, 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。

注意事项:

1. Acridine Orange Stain(1mg/ml)不含破膜剂, 较少单独使用。
2. 吖啶橙染色常与 EB 染色合用, 可区分出正常细胞、凋亡细胞及坏死细胞。
3. 如有低温离心机进行离心效果更佳。
4. 操作过程中应注意减少试剂暴露于强光下的时间。
5. 试剂有一定毒性, 请小心操作。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。