

AOPI 双染试剂盒

Cat NO: IMFP-D021

产品描述

AO/PI 双染试剂盒(AO/PI Double Staining Kit)是一种可以快速检测细胞状态的试剂盒。本试剂盒提供两种核染料，吖啶橙 (Acridine Orange, AO) 和碘化丙啶 PI。

AO 可以穿透细胞膜，将正常细胞染成绿色或黄绿色。当细胞凋亡时，染色体会固缩或者断裂成大小不一的片段。此时 AO 可以将凋亡细胞染上致密浓染的黄绿色或染成黄绿色碎片。另一种核染料 PI 不能透过细胞膜，不能将正常细胞或凋亡细胞染上红色，只能染细胞膜受损的细胞，如坏死细胞。当使用这两种染料双染时，正常细胞为绿色或黄绿色荧光，凋亡细胞为大小不一的致密黄绿色荧光，坏死细胞为强烈的红色荧光。

产品信息

表 1. 试剂盒组成信息

产品类别	产品名称	产品规格	储存
500T	AO Staining Solution	5*500uL	-20℃避光, 12 个月
	PI Staining Solution	5*500uL	-20℃避光, 12 个月
	10X Staining Buffer	5*1mL	-20℃避光, 12 个月
100T	AO Staining Solution	500uL	-20℃避光, 12 个月
	PI Staining Solution	500uL	-20℃避光, 12 个月
	10X Staining Buffer	1mL	-20℃避光, 12 个月

实验操作

1. 配制 1X 染色缓冲液：根据实验所需取适量 10X 染色缓冲液用超纯水稀释成 1X 染色缓冲液。
2. 准备样品：收集细胞，用 PBS 洗涤两次后重悬于适量 1X 染色缓冲液中并使细胞密度为 1×10^6 cells/mL。



注：贴壁细胞如直接进行原位观察， 可以将细胞接种在 96 孔板中， 接种密度为 $4\sim 8 \times 10^4$ cells/mL 。原位观察时可以不用消化收集细胞， 去除培养基后用 PBS 洗涤两次。随后原位孵育探针和检测。

3. 染色: 取 90 μ L 细胞悬液， 加入 5 μ L 的 AO 染色液和 5 μ L 的 PI 染色液， 混匀后室温避光孵育 1-10 min。

注：不同细胞染色时间可能存在差异， 需自行摸索。

4. 检测: 孵育结束后， 用 PBS 洗涤 2 次。随后加入适量 PBS 后即可用荧光显微镜或者流式细胞仪进行检测。AO 结合 DNA 后的 Ex/Em 为 502/525 nm； PI 结合 DNA 后的 Ex/Em 为 535/617 nm 。如使用荧光显微镜观察， 可分别使用 FITC 和 Cy3 滤光片进行观察。

注：染色后需要尽快检测。

注意事项

1. 染色完成后需要尽快进行检测。
2. 荧光染料容易淬灭， 使用和保存时都需要注意避光。
3. PI 对人体有害， 使用时请注意防护。

