



培养细胞荧光染色凋亡显示试剂盒

(Fluorescent Staining Apoptosis Detection Kit)

产品说明:

凋亡是一种程序性的细胞死亡，与细胞的坏死有生化 and 形态等方面的不同。细胞发生凋亡时，染色质会产生固缩等特征性凋亡改变。本试剂采用活细胞透过性荧光染料Hoechst 33342与另一种活细胞非透过性荧光染料碘化丙啶，直接对活细胞的染色体DNA进行特异性荧光染色。荧光显微镜下即可观察到凋亡细胞明亮的蓝色细胞核荧光着色，和典型的凋亡形态；而正常细胞着色很浅。坏死细胞则会被碘化丙啶着色产生红色荧光，从而区分出凋亡和坏死细胞。荧光染色的培养细胞也可直接用于流式细胞分析，是一种快速简便的细胞凋亡经典检测方法。

产品内容与储存方法:

名称	数量	保存条件
Reagent A (Hoechst 33342)	0.2 ml	4°C
Reagent B (Propidium Iodide)	0.2 ml	4°C

试剂盒可作100~200次检测。常温运输，4°C避光保存。有效期6个月。

操作方法:

荧光显微照相操作方法:

- 1) 接种于96孔板或其他培养容器的细胞，用所需方法处理以诱导凋亡。应同时设置阴性对照。
- 2) 染色前新鲜配制染色液。在适量完全培养液中每10 ml加入Reagent A (Hoechst 33342)和Reagent B (Propidium Iodide)各10 μ l，混匀。将处理细胞的培养液更换为染色液，置37°C避光培养10~30 min。
- 3) 荧光显微镜下，紫外光激发，观察和拍摄细胞蓝色发射图像；凋亡细胞有明亮的蓝色细胞核荧光着色，染色致密，无网状结构，常呈新月形或分节等典型的凋亡核形态。在相同显微区域用蓝光激发，观察和拍摄细胞红色发射图像，坏死细胞会被碘化丙啶着色产生红色荧光。极晚期凋亡细胞也会产生红色荧光着色。而正常细胞荧光着色很浅。

流式细胞分析操作方法:

- 1) 培养细胞用所需方法处理以诱导凋亡。应同时设置阴性对照。
- 2) 对贴壁生长细胞，用胰酶消化制备成单细胞悬液；对悬浮生长细胞，直接收集细胞。用冰冷PBS洗涤细胞后，用PBS制成浓度约 1×10^6 的单细胞悬液1 ml。
- 3) 加入Reagent A (Hoechst 33342)和Reagent B (Propidium iodide)各1 μ l，混匀。冰上孵育20~30 min。
- 4) 完成孵育后，立即进行流式细胞分析。采用UV/488 nm双波长激发，测定~460 nm和>575 nm的发射，细胞应可分成三个亚群：活细胞仅有很低的荧光强度，凋亡细胞有较强的蓝色荧光，坏死细胞（包括极晚期凋亡细胞）有蓝色和红色荧光双重染色。

注意事项:

不同细胞可能需要调整荧光染料的用量，以获得最佳染色效果。