

活细胞/凋亡细胞/坏死细胞鉴别试剂盒(AO/EB法.荧光显微镜)

产品货号: 26683

产品规格: 50 tests/100 tests

产品简介:

细胞坏死和凋亡是两种截然不同的细胞学现象,二者发生的过程在形态学上有很大的区别。在细胞坏死时,细胞膜发生渗漏,细胞内内容物包括细胞器以及染色质释放到胞外。而在细胞凋亡过程,起始阶段,染色质固缩、分离并沿核膜分布,细胞质亦发生固缩,但细胞膜依然完整未失去选择透性;在凋亡后期,核染色质断裂为大小不等的片断,与某些细胞器如线粒体一起聚集,为反折的细胞膜所包围,以后逐渐分离,形成凋亡小体。

产品提供的染料可以分别对正常细胞、凋亡细胞和坏死细胞的细胞核进行染色。其染色原理为: Dye Reagent 1与细胞DNA结合后会发出绿色荧光,激发/发射=488/525nm; Dye Reagent 2只能进入死细胞,将死细胞以及凋亡晚期的细胞核染成橙色,激发/发射= 302 / 595nm。因此通过在荧光显微镜下观察细胞显色和形态的不同,可以同时正常细胞、坏死细胞、凋亡早期细胞和凋亡晚期细胞区分开来。

产品组成:

产品名称	50 tests	100 tests	保存条件
Dye Reagent 1	25 μ L	50 μ L	2-8 $^{\circ}$ C, 避光
Dye Reagent 2	25 μ L	50 μ L	2-8 $^{\circ}$ C, 避光

试剂盒以外自备仪器和试剂:

1.5mL Microtube、荧光显微镜、载玻片、盖玻片、微量移液器。

操作步骤:

1. 细胞收集:

用适当方法诱导细胞凋亡,消化收集细胞,用PBS洗涤细胞二次,制备浓度为 5×10^5 - 6×10^6 cells/mL细胞悬液;

2. 将Dye Reagent 1和Dye Reagent 2等体积混合形成Mixed Dyes Reagent;

3. 吸取25 μ L的细胞悬液同1 μ L的Mixed Dyes Reagent轻轻混匀;

4. 吸取上述10 μ L的混合液置于一洁净的载玻片,并用盖玻片盖上细胞。

5. 荧光显微镜观察,分别对下列四类细胞进行计数,注意细胞总量须超过200个。

正常细胞:细胞呈圆形,核质体被均匀染成绿色,大小形状较单一;

坏死细胞:细胞呈椭圆形,核质体被均匀染成橙黄色,大小形状较单一;

凋亡早期细胞:核质体呈绿色,细胞形状不规则,如呈新月形;

凋亡晚期细胞:核质体呈橙色,染色质浓缩,细胞核碎裂成点状,大小不一,可见胞质芽状突起。

6. 计算细胞凋亡率和坏死率

细胞凋亡率= (凋亡早期细胞+凋亡晚期细胞) / 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. Dye Reagent 1、Dye Reagent 2及Mixed Dyes Reagent有毒,操作时请戴手套;

2. 最好根据需要检测的实际样品数在使用前将两种染料混合,剩余混合染液注意避光保存留待下次使用;

3. 使用血球计数板进行该项操作时,不要用血计板配套的那种质地较硬的盖玻片,而用普通的盖玻片反而更利于结果的观察。

有效期: 12个月。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com