

产品说明书

Oxazole yellow/PI 膜透性凋亡检测试剂盒

产品货号: Y6077

产品规格: 50T

产品组分:

组分	规格	Y6077 (50T)
A. Oxazole yellow dye		50 μ L
B. Propidium Iodide (PI)		50 μ L

注: Oxazole yellow dye: Ex/Em = 491/509 nm (结合 DNA) ;

Propidium Iodide: Ex/Em = 535/617 nm (结合 DNA)

储存方法

4°C避光保存, 有效期见外包装。对于长时间保存, 可将 Oxazole yellow dye 保存在-20°C。

产品介绍

细胞凋亡是指为维持内环境稳定, 由基因控制的细胞自主的有序的死亡。细胞凋亡与细胞坏死不同, 细胞凋亡 (Apoptosis) 一般是指机体细胞在发育过程中或在某些因素作用下通过细胞内基因及其产物的调控而发生的一种程序性细胞死亡过程, 细胞坏死是细胞受到强烈理化或生物因素作用引起细胞无序变化的死亡过程。细胞凋亡与坏死的区别在于特征性的形态学和生物化学变化, 包括细胞膜通透性与核染色质的变化, 细胞质的收缩及膜不对称的丧失。

本公司生产的 Oxazole yellow/PI 膜透性凋亡检测试剂盒, 是一种基于 Oxazole yellow 和 PI 两种染料的双荧光法检测凋亡的试剂盒。本试剂盒适用于荧光显微镜、流式细胞仪、荧光酶标仪及其它荧光检测系统。

Oxazole yellow 是一种非细胞膜穿透性的并对 DNA 具有高亲和力的羰花青单体绿色荧光染料, 在没有与 DNA 结合的时候基本上没有荧光, 而与 DNA 结合后可以发出明亮的绿色荧光。在细胞凋亡发生时, 细胞膜通透性发生改变, 此时 Oxazole yellow 可以进入细胞内与 DNA 结合, 发出明亮的绿色荧光, 因此常用于细胞凋亡的检测。需要注意的是 Oxazole yellow 也能染色死细胞, 因此需要和对死细胞特异性荧光染色的 PI 进行双染才能有效判定细胞凋亡。

PI (碘化丙啶, Propidium Iodide) 是一种可对 DNA 染色的红色荧光染料, 是一种溴化乙啶的类似物, 在嵌入双链 DNA 后释放红色荧光。尽管 PI 不能通过活细胞膜, 但却能穿过死细胞破损的细胞膜而对核染色。因此, Oxazole yellow 与 PI 联合使用, 可直接用于细胞凋亡的检测, 凋亡细胞呈现绿色荧光, 死细胞同时呈现红色和绿色荧光阳性, 活细胞很少或几乎没有荧光。

使用方法 (以流式细胞术为例)

1. 细胞准备



(1) 对于贴壁细胞，胰酶消化后用培养液重悬，并用预冷的 PBS 洗涤 1 次；胰酶消化时间不宜过长，以防引起假阳性。

注：用胰蛋白酶消化然后使细胞在最佳细胞培养条件和培养基中恢复约 30 min，然后染色。

(2) 对于悬浮细胞，1000 rpm 离心 5 min，弃上清，用预冷的 PBS 洗涤 1 次。

2. 细胞染色

用预冷的 PBS 悬浮细胞，每个样品推荐的细胞用量为 10^6 个/mL，向 1 mL 的样品中加入 1 μ L Oxazole yellow 和 1 μ L PI，轻轻吹打混匀。冰上避光孵育 30 min。

注：我们建议增加以下两组实验对照：

空白管：阴性对照组细胞，不加染料，用于调节电压。

单染管：阳性对照组细胞，只加 Oxazole yellow 和只加 PI 两管，用于调节补偿。

3. 流式检测

孵育完成后，可以直接进行流式细胞仪检测，也可以 1000 rpm 离心 5 min，吸弃上清，用 1 mL 预冷的 PBS 重悬样品后进行流式细胞仪检测。Oxazole yellow 可以由 488 nm 激光激发，检测荧光发射光谱约在 530 ± 30 nm 处（FITC 通道），PI 通道发射光谱约在 617 nm 处（PI 或 PE 通道）。

注意事项

1. 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
2. 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

