

AO/PI Cell Viability Detection Kit (For Fluorescence Microscopy)

荧光显微镜适配 AO/PI, 免配液, 最快 5 min 染色, 精准检测细胞活性

产品货号: C20706

产品规格: 50 T、250 T

储运条件: 4 °C保存, 冰袋运输

产品简介:

AO/PI Cell Viability Detection Kit是一款基于荧光染色技术的细胞活性检测试剂盒, 核心组分包含AO和PI两种高特异性荧光染料, 专为荧光显微镜观察设计, 可快速、精准区分正常细胞与坏死细胞。其核心原理是利用两种染料的细胞膜通透性差异及核酸结合特性实现双重标记:

AO是经典的、极灵敏的特异性荧光染料, 具有膜通透性, 能透过细胞膜标记细胞内DNA和RNA, 其与核酸的结合方式包括插入性结合和静电吸引, 本试剂PI为非细胞膜通透性荧光染料, 无法穿过具有生物活性的细胞质膜, 仅能进入细胞膜缺乏完整性的坏死细胞或凋亡后期(继发性坏死)细胞, 通过嵌入DNA双螺旋形成PI-DNA复合物产生红色荧光, 实现死细胞的特异性标记。

相较于传统细胞活性检测工具AO/EB双染体系, 本试剂盒具备显著优势: 传统AO/EB试剂盒以溴化乙啶(EB)作为死细胞染料, 不仅具有极高的致癌性和诱变性, 实验室操作风险高、防护要求严苛, 且EB的荧光光谱特性易与AO产生串色干扰; 而本试剂盒采用PI替代EB, 既大幅降低了生物安全风险, 又通过优化的光谱匹配度, 实现了AO色荧光与PI红色荧光的清晰分离, 完美适配主流荧光细胞计数仪的自动识别与定量分析功能。传统台盼蓝为单组分着色, 仅能通过明场肉眼和算法粗略判断细胞死活, 且精准度不足; 本试剂盒依托双染协同染色, 基于特异性荧光信号实现自动化、标准化、可量化检测, 数据可信度大幅提升。另本试剂盒无需复杂样品预处理, 提供即用型双染试剂, 操作便捷且能避免稀释过程中的误差, 同时通过荧光颜色与细胞核形态的双重判断, 大幅提升细胞状态区分的准确性。AO和PI组合存在荧光共振能量转移(FRET)现象, 这也是AO/PI双染法能区分活细胞、死细胞的重要机制之一。该产品广泛适配荧光显微镜观察, 可应用于药物筛选中的细胞毒性评估、药物/试剂毒性评估、细胞培养过程中的活力监控、环境胁迫对细胞影响分析等细胞生物学基础研究场景。

细胞活性检测是生命科学研究中的核心基础环节, 精准区分正常细胞与坏死细胞, 对解析细胞生理病理机制、评估药物疗效等具有关键意义。在细胞生物学研究中, 正常细胞与坏死的精准鉴别是揭示生命活动规律的重要前提, 而本试剂盒依托AO与PI的协同染色机制, 为研究人员提供清晰可量化的观察依据。在药物研发领域, 该试剂盒可快速评估候选药物的细胞毒性及诱导凋亡效果, 助力高效筛选活性化合物; 在基础研究中, 能精准监控细胞培养、转染、冻存复苏等过程中的细胞状态变化, 为实验质控提供可靠保障; 该试剂盒凭借高灵敏度、操作简便、结果准确等优势, 为生命科学研究提供稳定高效的细胞活性检测解决方案, 助力研究人员快速获取可靠数据, 推动相关领域的研究进展与技术转化。

注: 效能等同碧云天AO/PI Cell Viability Assay Kit for Fluorescence Microscope。

应用范围: 细胞毒性评估、药物/试剂毒性评估、细胞培养过程中的活力监控、环境胁迫影响

产品特点:

- **操作极简:** 提供即用型 AO/PI 双染试剂, 无需单独制备、稀释各类溶液, 仅需与细胞样品直接混合即可检测, 大幅简化实验流程;
- **检测高效:** 染色与检测过程快速完成, 无需复杂预处理步骤, 显著缩短实验周期;
- **结果精准:** 规避手动稀释带来的操作误差, 试剂浓度标准化, 提升检测重复性与数据可靠性。



产品参数:

- **AO Ex/Em:** 500/526 nm (with DNA)
- **AO Ex/Em:** 460/650 nm (with RNA)
- **PI Ex/Em:** 493/636 nm (without DNA)
- **PI Ex/Em:** 535/617 nm (with DNA)

产品组分:

组分	50 T	250 T
A. AO/PI Staining Reagent	5 mL	25 mL

注: 以 96 孔板为例, 按照每个样品使用 100 μ L AO/PI Staining Reagent 计算。

注意事项:

- 荧光染料均存在淬灭问题, 请注意避光, 以减缓荧光淬灭。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请遵循您所在常规实验室安全规定。

使用说明:

一、实验前准备

1. 试剂准备:

- 将试剂盒各组分恢复至室温, 准备足量 PBS 缓冲液。

2. 仪器准备:

- 荧光显微镜: 激发/发射波长 Ex/Em: 500/526 nm (AO) Ex/Em: 535/617 nm (PI)。

3. 对照组设置:

组别	AO/PI Staining Reagent	样品细胞
空白对照	-	不做任何处理
阴性对照	+	不做任何处理
实验组	+	实验组细胞

4. 细胞准备: (96 孔板)

- 根据实验设计, 对细胞进行相应的药物处理。

二、操作步骤

方案一: 荧光显微镜检测 (适用于悬浮细胞)

1. 收集与洗涤细胞:

- (1) 收集待测悬浮细胞悬液至离心管中。
- (2) 1000 rpm, 室温离心 5 min, 小心吸弃上清液。

2. 细胞重悬与计数:

- (1) 使用 PBS 重悬并细胞计数。
- (2) 取 $1-5 \times 10^5$ 个细胞, 1000 rpm 低速离心 5 min, 去除 PBS。

3. 细胞染色:

- (1) 使用 100 μ L 组分 A (AO/PI Staining Reagent) 重悬细胞。

注: 不同细胞数量, 可按照 AO/PI Staining Reagent 重悬细胞后, 使细胞密度为 100 万-2000 万/mL。

- (2) 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 5-10 min 或室温避光孵育 10-20 min (孵育温度和时间可根据细胞类型优化)。

注: 染色时间可以根据不同的细胞种类、预实验或实验条件设置的使用量进行调整。

4. 洗涤与重悬:

- (1) 孵育结束后, 1000 rpm, 室温离心 5 min, 收集细胞。



- (2) 小心吸弃含染料的上清液（此为废液，需妥善处理）。
- (3) 加 100 μ L PBS 轻柔重悬细胞，进行洗涤，离心，吸净上清液。
- (4) 加入 100 μ L PBS 轻柔重悬细胞，制成待测样品。

5. 显微镜观察与拍照：

- (1) 96孔板法：将100 μ L细胞悬液加入96孔板中，静置片刻，待细胞自然沉降贴底后，置于荧光显微镜下观察。

注：细胞悬液使用量可以根据细胞计数的数量自行调整，显微镜视野中细胞分布 70%-80%为最佳。

- (2) 载玻片法：取20-30 μ L细胞悬液滴加于洁净载玻片上，轻轻盖上盖玻片，避免产生气泡，置于荧光显微镜下观察。
- (3) 分别在预设的滤光片条件下，寻找并分别拍摄。

方案二：荧光显微镜检测（适用于贴壁细胞）

1. 细胞处理：（96 孔板为例）

- (1) 提前一天在孔板中接种细胞，使得细胞汇合度达到70%-85%，待细胞贴壁后按照实验设计处理细胞。

2. 细胞清洗：

- (1) 直接在培养板中吸弃细胞培养液。
- (2) 根据培养板规格，加入100 μ L PBS轻柔洗涤细胞1-2次，洗涤后吸净PBS。

3. 细胞染色：

- (1) 向各孔中加入100 μ L组分A(AO/PI Staining Reagent)。
- (2) 37 $^{\circ}$ C避光孵育5-10 min或室温避光孵育10-20 min（孵育时间可根据预实验结果优化）。

注：染色时间可以根据不同的细胞种类、预实验或实验条件设置的使用量进行调整。

4. 洗涤：

- (1) 孵育结束后，吸弃各孔中的组分A。
- (2) 加入100 μ L PBS洗涤细胞1-2次。

5. 显微镜观察与拍照：

- (1) 洗涤后，每孔加入100 μ L PBS，以保持细胞湿润。
- (2) 直接将培养板置于荧光显微镜下观察和拍照。滤光片设置同方案一。

三、 结果判读：

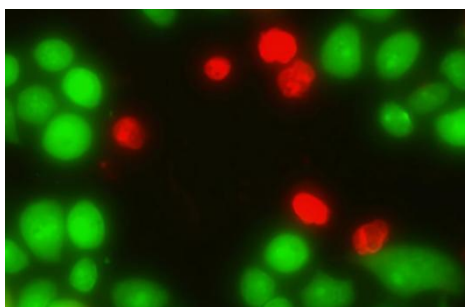


图 1.AO/PI Cell Viability Detection Kit 染色的效果图

结果判读：

Hela 细胞经 AO/PI Cell Viability Detection Kit 试剂盒染色，37 $^{\circ}$ C避光孵育 5 min，随后荧光显微镜检测，图中绿色荧光表示活细胞，红色荧光表示坏死细胞。

注：实际检测结果可能因检测仪器、操作条件、细胞类型等差异产生不同，本示例仅供参考。

常见疑问与解答：

● 问：AO/PI双染四款系列产品，该如何选择呢？

答：

货号	名称	匹配仪器	核心特点	选择逻辑
----	----	------	------	------



C20706	AO/PI Cell Viability Detection Kit (For Fluorescence Microscopy)	荧光显微镜	手动计数专用, 染色强度适配显微镜观察	用显微镜手动拍照/计数, 选这款
C20707	AO/PI Double Staining Kit (Set A, For Cell Counter)	细胞计数仪	荧光强度最弱	仪器荧光检测灵敏度高, 避免信号过饱和
C20708	AO/PI Double Staining Kit (Set B, For Cell Counter)		荧光强度中等	初次选购首选, 适配绝大多数计数仪
C20709	AO/PI Double Staining Kit (Set C, For Cell Counter)		荧光强度最强	仪器荧光检测灵敏度低, 需要更强信号

