

AO/PI Double Staining Kit (For Cell Counter)

替代台盼蓝/AO/EB，精准区分死活细胞双染试剂，适配全品牌计数仪

产品货号：C20707, C20708, C20709

产品规格：100 T, 500 T

储运条件：4 °C避光保存，冰袋运输

产品简介：

AO/PI Double Staining 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，专为细胞计数仪设计，可快速、精准区分正常细胞与坏死细胞。由 AO 和 PI 染色液优化比例混合而成，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，本试剂盒中 AO 主要通过插入性结合嵌入 DNA 双链碱基对之间，激发后呈绿色荧光（荧光发射峰 530 nm），而与 RNA 或单链 DNA 的静电吸引结合（荧光发射峰 640 nm）不作为核心标记依据；经 AO 染色后，正常细胞的细胞核呈绿色或黄绿色均匀荧光，凋亡细胞因染色质固缩、断裂形成凋亡小体，呈现致密浓染的黄绿色荧光或黄绿色碎片颗粒，坏死细胞的黄荧光则会减弱甚至消失。

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。

PL 生产的该系列产品包含 Set A、Set B 和 Set C 三种，可以适用于对于荧光强度有不同要求的荧光细胞计数仪。Set A、Set B 和 Set C 三种试剂盒的荧光由弱到强，Set A 荧光相对最弱一点，Set C 荧光相对最强一点。初次选购可以考虑尝试 Set C。在实际使用中，也可通过调节荧光细胞计数仪的拍摄参数，进一步适配不同荧光强度的染色需求。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 试剂盒以溴化乙锭(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，在荧光细胞计数仪上难以被软件精准识别，无法满足定量计数的需求；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 绿色荧光与 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；本试剂盒依托双标协同染色，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。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细胞计数仪，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 Double Staining Kit for Cell Counter。

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 1 : 1 比例混合即可检测，大幅简化实验流程；



仅限体外科研用途 不得用于临床诊断或治疗
技术咨询 Contact@probelives.com
订购咨询 Sales@probelives.com

中文网址 www.probelives.cn
英文网址 www.probelives.com
Suzhou Probilives Technology CO., LTD.

- **检测高效：**染色与检测过程仅需 5 min 完成，无需孵育步骤，可直接上机检测，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；
- **提供不同检测灵敏度的产品，适配多款细胞计数仪：**因不同品牌荧光细胞计数仪的荧光检测参数存在差异，且参数可自主调节，按染色强度分为 Set A、Set B、Set C 三款，绿色荧光强度依次递增，可根据所用仪器特性灵活选用。

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：

货号	AO/PI Double Staining Kit (Set A, For Cell Counter)		
	规格	100 T	500 T
C20707	AO/PI Double Staining Kit (Set A, For Cell Counter)	1 mL	5× 1 mL
C20708	AO/PI Double Staining Kit (Set B, For Cell Counter)	1 mL	5× 1 mL
C20709	AO/PI Double Staining Kit (Set C, For Cell Counter)	1 mL	5× 1 mL

注：按照每个样品使用 10 μL AO/PI Double Staining Kit 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：

- 细胞计数仪：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 Double Staining Kit	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：

- 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：细胞计数仪检测（适用于悬浮细胞）

1. 细胞准备：

- (1) 将细胞按照实验设计进行处理。



2. 细胞染色：

- (1) 用移液器精确吸取 10 μ L 处理好的细胞样本，加入至离心管中。
- (2) 加入等体积的 AO/PI 双染液，用移液枪轻轻吹打混匀。

3. 胞计数仪检测：

- (1) 可直接吸取 10 μ L 混匀的染色细胞，上样至细胞计数板中。

注：细胞计数仪的操作可按照仪器说明书进行。

方案二：细胞计数仪检测（适用于贴壁细胞）

1. 细胞处理：

- a. 将细胞培养基吸出至适合的离心管内备用。贴壁细胞用少量 PBS 清洗一遍，清洗后的 PBS 吸出后同样转移到盛装培养基的离心管内，1000 rpm，室温离心 5 min。
- b. 加入适量不含 EDTA 的胰酶消化液消化细胞。

注：胰酶使用量、消化时间、消化温度根据各自实验室的经验操作。

- c. 关键：加入 a 步骤离心管内备用的细胞培养基，终止消化。
- d. 将细胞悬液转移至合适的离心管，1000 rpm，室温离心 5 min，吸弃上清。
- e. 收集 a 步骤与 d 步骤中的细胞。
- f. 用 PBS 重悬细胞。

注：胰酶消化步骤对于贴壁细胞很关键。消化时间过短，细胞需要用力吹打才能脱落容易造成机械损伤，导致细胞凋亡的假阳性；消化时间过长，同样会造成细胞凋亡的假阳性。

2. 细胞染色：

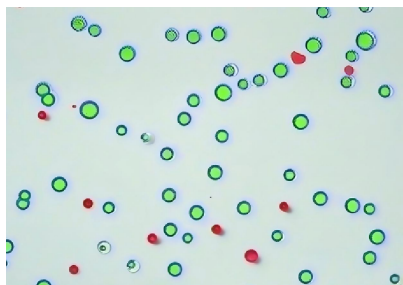
- (1) 用移液器精确吸取 10 μ L 处理好的细胞样本，加入至离心管中。
- (2) 加入等体积的 AO/PI 双染液，用移液枪轻轻吹打混匀。

3. 细胞计数仪检测：

- (1) 可直接吸取 10 μ L 混匀的染色细胞，上样至细胞计数板中。

注：细胞计数仪的操作可按照仪器说明书进行。

三、 结果判读：



Hela 细胞经 AO/PI Double Staining Kit (Set C, For Cell Counter) 试剂盒染色，随后在细胞计数仪检测，细胞计数仪自动识别活细胞与坏死细胞，图中绿圈表示活细胞，红圈坏死细胞。

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	仪器荧光检测灵敏度中, 需要较强信号
C20709	AO/PI Double Staining Kit (Set C, For Cell Counter)		荧光强度最强	初次选购首选, 适配绝大多数计数仪

