

Ready-to-use Oxazole Blue(PO-PRO™-1, 1 mM in DMSO)

Oxazole Blue, 死亡细胞和凋亡细胞指示剂, 最快 10 min 标记, 无细胞毒性

产品货号: C22216

产品规格: 1 mL

储运条件: -20 °C避光保存, 冰袋运输

产品简介:

本产品Ready-to-use Oxazole Blue(PO-PRO™-1, 1 mM in DMSO)均为膜不透透型单聚羧花青核酸染料, 遵循与游离弱荧光、结合双链DNA后荧光大幅增强的分子识别原理。可用于细胞死亡和细胞凋亡检测。细胞凋亡是程序性细胞死亡的典型类型, 依据细胞形态、细胞膜通透性变化可划分为早期、中期、晚期三个阶段。早期凋亡仅发生细胞膜轻微渗漏; 晚期凋亡会出现染色质凝集、核膜降解、细胞核形态畸变、DNA片段化等特征, 细胞膜完整性彻底丧失。其核心原理为:

Oxazole Blue是蓝色荧光单体核酸染料, 结合DNA激发/发射波长 434/457 nm。染料能标记细胞膜破损的细胞, 是死亡细胞和凋亡细胞指示剂, 且该染料无细胞毒性, 不会干扰细胞正常生理活性, 可长期监测细胞活力, 支持细胞长期活力动态监测。

细胞膜通透性破损程度是区分凋亡不同时期、判定细胞存活状态的关键依据, Oxazole Blue无细胞毒性, 适用于长时间细胞追踪、细胞株长期活力动态监测。本系列产品单染或组合其他染料使用均可量化不同死亡阶段细胞占比, 减少荧光串色干扰, 提升实验数据准确性, 广泛应用于细胞生物学、肿瘤药理学、高通量药物毒性筛选、免疫基础研究等方向, 是解析细胞稳态、细胞程序性死亡调控机制的标准化核心荧光试剂。

注: 别名PO-PRO™-1。

注: 效能等同Thermo Fisher PO-PRO™-1。

注: 本文中PO-PRO™为赛默飞世尔科技(Thermo Fisher Scientific)的商标及注册商标。

应用范围: 细胞凋亡通路机制研究、细胞毒性检测、细胞坏死研究、细胞活力监测、微生物活性分析等

产品特点:

- **核酸特异性荧光响应:** 为膜不透透型羧花青核酸染料, 游离状态下荧光极弱, 仅特异性结合 DNA 后荧光大幅增强, 非特异性染色背景低, 检测信噪比优异;
- **信号稳定重复性好:** 染色均匀、背景低, 荧光信号稳定, 实验结果可靠;
- **光谱与设备兼容:** 适配荧光显微镜、流式细胞仪等多种设备, 与常见荧光通道兼容性好;
- **无细胞毒性:** Oxazole Blue 不干扰细胞正常生理活性, 无细胞毒性, 可长时间追踪细胞活力。

产品参数:

- **Oxazole Blue Ex/Em:** 434/457 nm (with DNA)

产品组分:

货号	组分	2000 T
C22216	Ready-to-use Oxazole Blue(PO-PRO™-1, 1 mM in DMSO)	1 mL

注: 使用次数为每次使用 5 μM 染色工作液, 每孔加入 100 μL, 进行 96 孔板荧光显微镜检测计算。

注意事项:

- 使用前请将产品瞬时离心, 再进行后续操作。
- 荧光染料均存在淬灭问题, 请尽量注意避光。



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 Probabilities Technology CO., LTD.

- 染色完成后1 h内进行流式检测，以保证荧光信号稳定。
- 使用贴壁细胞进行流式检测时，胰酶消化后必须使用含血清的培养基中和并去除胰酶，避免胰酶破坏细胞膜结构导致检测假阳性；消化时间需严格控制，过短/过长均会造成细胞机械损伤，影响检测结果。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。

使用说明：

一、实验前准备

1. 试剂准备：

- 将试剂从储存条件（如-20 °C）取出，平衡至室温(15~25 °C)，准备足量的PBS/完全培养基。
- Oxazole Blue染色工作液：对于荧光显微镜，常规工作浓度区间为1~10 μM；对于流式细胞仪，常规工作浓度区间25 nM~1 μM，推荐100 nM作为初始尝试浓度。如配制1 mL 5 μM的染色工作液：将Ready-to-use Oxazole Blue(PO-PRO™-1, 1 mM in DMSO)与PBS混合现配现用；如1 mL PBS中加入5 μL Ready-to-use Oxazole Blue(PO-PRO™-1, 1 mM in DMSO)。

注：不同细胞样本染色敏感度存在差异，建议设置浓度梯度预实验，确定最优染色浓度。

注：染色工作液建议现用现配，当染料荧光亮度过高时，优先选用低浓度、短孵育时间以降低背景干扰；当荧光信号偏弱时，可选用高浓度区间或者适当延长孵育时长。

2. 仪器准备：

- 荧光显微镜：激发/发射波长Ex/Em：434/457 nm(Oxazole Blue)。

二、操作步骤

方案一：荧光显微镜（适用于悬浮细胞）

1. 收集细胞：

- (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 重悬细胞沉淀，进行细胞计数。
- (2) 取 1×10^6 个细胞，1000 rpm 低速离心 5 min，去除 PBS。

注：显微镜法对细胞密度要求不严格，只要实验组与对照组密度一致即可。具体可根据样本种类与实验条件灵活调整，以显微镜下视野中细胞分布清晰可辨为宜。

3. 细胞染色：

- (1) 取500 μL的Oxazole Blue染色工作液，加入离心管中轻柔重悬细胞。

样品数量	1	2	10
检测工作液	500 μL	1000 μL	5000 μL

- (2) 室温避光孵育 10 min，孵育时长可根据实际观察到的染色效果进行灵活调整，调整区间为 10~30 min。

注：各染料的孵育时长、加样量可以根据实验所用的不同细胞种类、预实验结果或实验条件设置的使用量进行调整。

注：本染料仅可染色未固定活细胞样本，若活、死混合细胞染色后进行固定处理，染料会从死细胞中渗漏，进而渗入活细胞内造成假阳性。

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) 缓慢加入 PBS 轻柔重悬细胞，进行洗涤，离心，吸净上清液。
- (4) 重复步骤（3）两次。

5. 显微镜观察与拍照：

- (1) 96孔板法：将100 μL细胞悬液加入96孔板一个孔中，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10~20 μL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) 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（适用于贴壁细胞）



1. 细胞准备:

(1) 接种培养: 将细胞接种于 96 孔板等多孔板、细胞培养皿中或者细胞爬片上。

注: 贴壁细胞荧光显微镜检测接种量为 24~48 h 后预期汇合度到达 70%~80%。

注: 不同细胞类型需结合实际实验条件和细胞特性灵活调整。

2. 细胞染色:

(1) 取 100 μ L 的 Oxazole Blue 染色工作液, 加入 96 孔板中, 轻轻吹打混匀 (例如: 96 孔板加 100 μ L/孔, 48 孔板加 150 μ L/孔, 24 孔板加 250 μ L/孔, 12 孔板加 500 μ L/孔, 6 孔板加 1 mL/孔)。

样品数量	1	2	10
检测工作液	100 μ L	200 μ L	1000 μ L

(2) 室温避光孵育 10 min, 孵育时长可根据实际观察到的染色效果进行灵活调整, 调整区间为 10~30 min。

注: 各染料的孵育时长、加样量可以根据实验所用的不同细胞种类、预实验结果或实验条件设置的使用量进行调整。

注: 染色后不可固定, 若活、死混合细胞染色后进行固定处理, 染料会从死细胞中渗漏, 进而渗入活细胞内造成假阳性。

3. 洗涤与重悬:

(1) 小心吸弃含染料的上清液 (此为废液, 需妥善处理)。

(2) 缓慢加入 PBS 轻柔重悬细胞, 进行洗涤, 吸净上清液。

(3) 重复步骤 (2) 两次。

4. 检测:

(1) 在荧光显微镜下检测。在预设的滤光片条件下, 寻找并分别拍摄。

方案三: 流式细胞仪检测 (适用于悬浮与贴壁细胞)

1. 收集与制备单细胞悬液:

● 悬浮细胞: 同方案一, 最终取 1×10^6 个细胞。

● 贴壁细胞:

a. 贴壁细胞用少量 PBS 清洗一遍;

b. 加入适量胰酶消化液消化细胞。离心收集细胞;

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. 用 PBS 重悬细胞并进行细胞计数;

d. 取 1×10^6 个细胞, 1000 rpm, 室温离心 5 min, 吸弃上清;

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) 取 500 μ L 的 Oxazole Blue 染色工作液, 加入离心管中轻柔重悬细胞。

样品数量	1	2	10
检测工作液	500 μ L	1000 μ L	5000 μ L

(2) 室温避光孵育 10 min, 孵育时长可根据实际观察到的染色效果进行灵活调整, 调整区间为 10~30 min。

注: 各染料的孵育时长、加样量可以根据实验所用的不同细胞种类、预实验结果或实验条件设置的使用量进行调整。

注: 染色后不可固定, 若活、死混合细胞染色后进行固定处理, 染料会从死细胞中渗漏, 进而渗入活细胞内造成假阳性。

3. 洗涤与重悬:

(1) 孵育结束后, 可直接上机检测; 也可以离心后清洗一次, 加入 500 μ L PBS 重悬细胞制成流式上机样品。

4. 上机检测:

(1) 重要: 染色完成后 1 h 内进行流式检测, 以保证荧光信号稳定。

(2) 用流式细胞仪在预设的检测通道下进行分析。

(3) 首先通过空白对照 (未染色细胞) 调节电压, 使细胞群位于坐标系左下角。

(4) 然后检测阴性对照和阳性对照, 确认实验体系成立。

(5) 最后检测实验样品, 记录并分析细胞的平均荧光强度。

三、结果判读

● 定性分析 (显微镜):



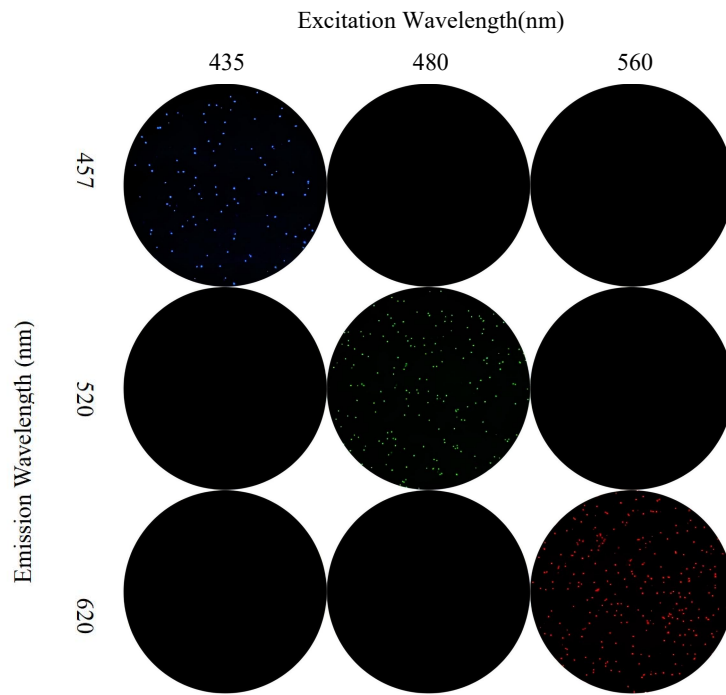


图 2.C22216 染色荧光显微成像

结果判读：实验样本为冷冻保存的 Peripheral Blood Mononuclear Cells 解冻后，经过 AO(480/520 nm)、PI(560/620 nm)、Oxazole Blue(435/457 nm)染色，并在指定的激发和发射波长下成像。AO 染色活细胞，PI 染色死亡细胞，Ready-to-use Oxazole Blue 染色凋亡细胞。确保对活细胞明确的检测。

注：图片引自参考文献《Serial Measurements of Apoptotic Cell Numbers Provide Better Acceptance Criterion for PBMC Quality than a Single Measurement Prior to the T Cell Assay》(doi:10.3390/cells4010040)

常见疑问与解答：

- 问：为什么完整活细胞不会被染色？

答：可两款均为膜不透型染料，无法穿透结构完整的活细胞膜；仅细胞膜破损时才能进入细胞结合 DNA 产生荧光。

- 问：本系列产品不同检测设备对应的推荐工作浓度是多少？

答：提供两种成熟制备方案供参考。

a. 荧光显微镜静态成像：常规工作浓度区间为 1~10 μM ，可针对自身样本设置浓度梯度，筛选最优染色浓度。

b. 流式细胞术检测：常规工作浓度区间为 25 nM~1 μM ，基础实验推荐 100 nM 作为初始参考浓度，可根据细胞类型梯度优化。

- 问：Oxazole Blue与Oxazole Yellow应该如何选择？

答：产品的区别与优势及如何选用可参考下表：

产品货号	Oxazole Yellow	Oxazole Blue
别名	YO-PRO®-1	PO-PRO™-1
荧光颜色	绿色	蓝色
Ex/Em	491/506 nm	434/457 nm
细胞毒性	适合终点染色	无细胞毒性，可长期监测
特异性	早期凋亡的特异性染料	死亡细胞和凋亡细胞指示剂

