

精子核 DNA 染色液(AO 法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

正常情况下与精核 DNA 结合的碱性蛋白(核蛋白)将经历从组蛋白到鱼精蛋白的自然成熟过程，这种成熟后的鱼精蛋白对精子基因(DNA)具有特殊保护作用，组蛋白被鱼精蛋白逐渐取代的过程，称之为精子核蛋白组型转换，这种组型转换具有重要的生理意义。精子核携带着全部来自父方的遗传信息，这些基因必须在受精后才能开始表达，受精前精子基因在鱼精蛋白的特殊保护下紧密浓集，无任何 DNA 转录作用。但当核蛋白组型转换异常可引起男性不育或胚胎早期夭折流产，其机理为：①精子 DNA 不稳定且易受损伤而难以受孕；②一旦受精，由于核蛋白组型异常，精子核不能正常解聚，从而影响了雌雄原核的融合；③胚胎不能正常发育，造成胚胎夭折而流产。

正常精子核约占其头部的 65%，由结合蛋白的 DNA 构成，精子核 DNA 染色液(AO 法)作用原理是荧光染料吖啶橙与双链 DNA 结合发出绿色荧光，与单链 DNA 结合后可发出红色或黄色荧光，通常有双链 DNA 的精子才能有受精能力。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
精子核 DNA 染色液(AO 法)	20T	4℃	1 份	6 个月
试剂(A): 洗涤液	100ml	RT	1 份	6 个月
试剂(B): 固定液	50ml	RT 避光	1 份	6 个月
试剂(C): AO 染色液	1ml	4℃ 避光	1 份	6 个月
试剂(D): AO Buffer	5ml	4℃	1 份	6 个月
试剂(E): 抗荧光淬灭封片剂	5ml	4℃ 避光	1 份	6 个月

自备材料：

- 1、蒸馏水
- 2、新鲜精液样本
- 3、EP 管或离心管
- 4、恒温箱
- 5、防脱载玻片

操作步骤(仅供参考)：

- 1、取新鲜精液标本，置于恒温箱 37℃或常温放置，至完全液化。
- 2、取上述液化精液 0.2~0.5ml 置于 EP 管，再加入 1~1.5ml 洗涤液，用吸管或移液器反复吹打数次，室温 2000rpm 离心 5~10min，弃去上清液，保留管底精子沉淀团，重复操作

1~2 次。

- 3、向精子沉淀加入洗涤液约 0.05~0.2ml，制成混合精子悬液。
- 4、取上述已制备好的精子悬液 15~100 μ l，均匀涂布于防脱载玻片，自然干燥。
- 5、在涂片区内滴加固定液 2~3 滴，室温固定 10~15min，蒸馏水稍洗，并甩去多余水分。
- 6、配制 AO 染色工作液：按 AO 染色液：AO Buffer=1：4 的比例混合，即为 AO 染色工作液，注意该工作液应即配即用，不宜久置。
- 7、在涂片区内滴加 AO 染色工作液 2~4 滴，室温染色 5min，蒸馏水稍洗，并甩去多余水份。
- 8、吹干或晾干玻片，滴加 2~4 滴抗荧光淬灭封片剂，荧光显微镜下观察。

结果：

核 DNA 绿色荧光

注意事项：

- 1、蒸馏水冲洗载玻片时要注意控制水流速度，以免洗脱涂片区内的精子。
- 2、甩去多余水分，应防止涂片过于干燥。
- 3、配制的 AO 染色工作液应即配即用，不宜久置，否则荧光会衰减，如果荧光明显衰减可提高 AO 染色液：AO Buffer=1：4 配制比例，以达到较好的效果。
- 4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品：

Acr-Bis (30%, 29:1)
DAPI 染色液 (5ug/ml)
DEPC 处理水 (0.1%)
GUS 染色液(即用型)
Hoechst33342/PI 细胞凋亡染色试剂盒
Masson 三色染色液