

## 精子核 DNA 染色液(AO 法)

### 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:

名称	编号	DA1210 20T	Storage
试剂(A): 洗涤液		100ml	RT
试剂(B): 固定液		50ml	RT
试剂(C): AO 染色液		1ml	4°C 避光
试剂(D): AO Buffer		5ml	4°C
试剂(E): 抗荧光淬灭封片剂		5ml	4°C
说明书		1 份	

### 自备材料:

- 1、蒸馏水、新鲜精液样本
- 2、EP 管或离心管、恒温箱、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°C 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 $\mu$ 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。

**有效期：**12 个月有效；低温运输，按要求保存。

**相关产品：**

产品编号	产品名称
DA0184	精子活体染色液(伊红-苯胺黑法)
DM0007	瑞氏-姬姆萨复合染色液
DZ2011	环保浸蜡脱蜡透明液
NR0001	DEPC 处理水(0.1%)
PS0013	RIPA 裂解液(强)
TC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)