

一步法 tunel 凋亡检查试剂盒（绿，AF488）

货号：HKI0010

【产品信息】

| 产品名称 | 产品货号 | 规格 | 有效期 |
|----------------------------|---------|----------|-----|
| 一步法 tunel 凋亡检查试剂盒（绿，AF488） | HKI0010 | 50T/100T | 一年 |

【产品简介】

细胞在发生凋亡时，会激活一些 DNA 内切酶，这些内切酶会切断核小体间的基因组 DNA。细胞凋亡时抽提 DNA 进行电泳检测，可以发现 180-200bp 的 DNA ladder。基因组 DNA 断裂时，暴露的 3'-OH 可以在末端脱氧核苷酸转移酶(Terminal Deoxynucleotidyl Transferase, TdT) 的催化下加上绿色 AF488 标记的 dUTP，从而可以通过荧光显微镜或流式细胞仪进行检测，这就是 TUNEL(TdT-mediated dUTP Nick-End Labeling)法检测细胞凋亡的原理

【储存与运输】

冰袋运输，-20° C 储存，可稳定储存一年。

【试剂组成】

| 货号 | 品名 | 50T | 100T |
|-----------|-------------|-------|--------|
| HKI0010-1 | AF488 荧光反应液 | 2.5ml | 5ml |
| HKI0010-2 | TdT 酶 | 50 μl | 100 μl |

【使用方法】

石蜡切片荧光 tunel 实验步骤

石蜡切片脱蜡至水：依次将切片放入二甲苯 I 15min-二甲苯 II 15min-无水乙醇 I 5min-无水乙醇 II 5min，取出置于通风厨内等酒精晾干后放入自来水中稍洗，蒸馏水洗。（冬天应提高脱蜡温度或适当延长脱蜡时间）

通透：PH6.0 柠檬酸修复液中火修复 8min，室温冷却，用免疫组化笔划圈，之后纯水洗三次（重要）。（通透方式有多种：1 蛋白酶消化，2 tritonx100 通透剂通透，柠檬酸修复）

配试剂工作液以及孵育：荧光反应液（白光 tunel 反应液）和 TdT 酶按 50:1 比例混合，此液为 tunel 工作液，将 tunel 工作液加入到圈内覆盖组织，切片平放于湿盒内，37°C 恒温箱 孵育 30min 到 2 小时（具体需要预实验），湿盒内加少量水保持湿度。

DAPI 复染细胞核：切片用 PBS (PH7.4) 洗涤 3 次，每次 5min。去除 PBS 后在圈内滴加 DAPI 染液，避光室温孵育 10min。

封片：玻片置于 PBS (PH7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次，每次 5min。切片稍甩干后用抗荧光淬灭封片剂封片。

镜检拍照：切片于尼康倒置荧光显微镜下观察并采集图像。

镜检拍照：切片于尼康倒置荧光显微镜下观察并采集图像。（紫外激发波长 330-380nm，

石蜡切片荧光 tunel 结果判读

DAPI 染出来的细胞核在紫外的激发下为蓝色，试剂盒为 AF488 标记，阳性凋亡细胞核为绿色。

【注意事项】

1. 本试剂仅供科研。
2. 操作时请穿实验服，佩戴一次性手套。