

TUNEL 绿色荧光检测试剂盒

Fluorescence and Colorimetric TUNEL Apoptosis Assay Kit

用户手册

产品编号：M3026

M3026-1 50 次

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话：86-021-51873168 传真：86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

目录

一、	说明	3
1.1	背景介绍	3
1.2	检测原理	3
二、	产品组成和储存条件	4
三、	注意事项	5
四、	实验方案	5
4.1	样本预处理方案	6
4.2	DNA 酶处理阳性对照的步骤（可选的）	8
4.3	标记及检测	9
4.4	流式细胞术检测悬浮细胞的步骤	11
五、	操作实例：喜树碱（Camptothecin）诱导的 HL-60 细胞凋亡的检测	12
六、	问题诊断	13
七、	缓冲液及溶液组分	14
八、	相关产品	16

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话：86-021-51873168 传真：86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

一、说明

1.1 背景介绍

细胞凋亡是细胞的一种基本生物学现象，在生物体进化、内环境的稳定以及系统发育中发挥着重要的作用。细胞凋亡发生在正常的细胞周期循环中，并发生形态学和生理生化的特征性改变，比如细胞皱缩，细胞间连接消失，线粒体膜电位消失，通透性改变，核质浓缩，核膜核仁破碎，DNA 降解成为约 180bp-200bp 的片段；胞膜有小泡状突起，膜内侧磷脂酰丝氨酸外翻到膜表面，胞膜结构仍保持完整，最终凋亡细胞遗骸被分割包裹为几个凋亡小体，并迅速被周围专职或非专职吞噬细胞吞噬。以上改变发生在不同的细胞凋亡阶段。

细胞凋亡的一个显著特点是细胞染色体的 DNA 降解，这是一个较普遍的现象。这种降解非常特异并有规律，所产生的不同长度的 DNA 片段约为 180-200bp 的整倍数，而这正好是缠绕组蛋白寡聚体的长度，提示染色体 DNA 恰好是在核小体与核小体的连接部位被切断，产生不同长度的寡聚核小体片段，实验证明，这种 DNA 的有控降解是一种内源性核酸内切酶作用的结果，该酶在核小体连接部位切断染色体 DNA，这种降解表现在琼脂糖凝胶电泳中就呈现特异的梯状 Ladder 图谱，而坏死呈弥漫的连续图谱。

1.2 检测原理

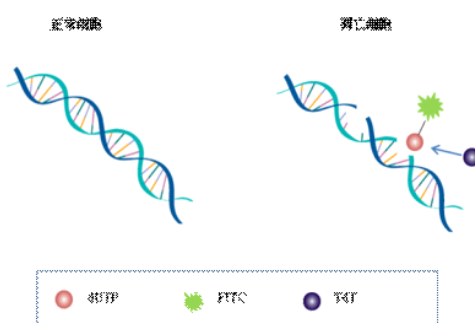


图 1. 试剂盒检测原理

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话：86-021-51873168 传真：86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

本试剂盒采用 TUNEL (TdT mediated dUTP Nick End Labeling) 法, 应用末端脱氧核糖核苷酸转移酶 (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase, TdT) 在凋亡细胞断裂的 DNA 的 3'-羟基 (3'-OH) 末端催化掺入荧光素-12-脱氧三磷酸尿苷 (FITC-12-dUTP)。FITC-12-dUTP 标记的 DNA 可以用荧光显微镜直接观察或者用流式细胞仪定量。试剂盒对标记反应进行了优化, 采用最佳比例的荧光素标记和未标记 dNTP 进行 3'-OH 末端的核苷酸掺入, 使得同一个断裂的 DNA 片段末端可以形成更长的“标记尾巴”, 该“标记尾巴”减少了相邻掺入 dNTP 上标记基团的空间位阻, 增加每个断裂片段后的荧光基团数目, 降低荧光基团相邻后可能造成的聚集和淬灭, 从而提高检测灵敏度, 减少非特异性反应。

二、产品组成和储存条件

检测次数: 50 次

检测方法: 荧光显微镜或流式细胞仪

样本类型: 石蜡包埋组织切片、组织冰冻切片、细胞涂片以及细胞悬液

试剂盒组分: 5×平衡缓冲液(5×Equilibration Buffer) 1.5ml

FITC-12-dUTP 标记混合物(FITC-12-dUTP Labeling Mix) 250μl

重组 TdT 酶(Recombinant TdT Enzyme) 50μl

蛋白酶 K(Proteinase K) 2mg/ml 储液 100μl

***请使用者自备:** 仪器耗材: 小型染色缸、湿盒 (塑料/玻璃容器与吸水纸)、盖玻片、封口膜

实验试剂: 二甲苯, 梯度稀释乙醇溶液 (100%、90%、80%、70%), Triton® X-100, DNA 酶 I, PI (Sigma 目录号# P4170), DAPI (Sigma 目录号#D9542), 不含甲醇的甲醛 (普通甲醛为了稳定都加有甲醇, 不可使用; 多聚甲醛可直接替代不含甲醇的甲醛;), 20mM EDTA (pH 8.0), PBS, DNA 酶 I 缓冲液。

储存条件: 5×平衡缓冲液、重组 TdT 酶和蛋白酶 K 储存于 -20℃。FITC-12-dUTP 标记混合物避光储存于 -20℃。

这些组分要避免反复冻融。

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话: 86-021-51873168 传真: 86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

三、 注意事项

本试剂盒提供的 FITC-12-dUTP 标记混合物是对光敏感的。标记混合物以及孵育缓冲液和包含标记混合物的载玻片要避免光照。

平衡缓冲液包含二甲胍酸钾 (potassium cacodylate)。避免接触皮肤和眼睛。使用该试剂时戴好手套。

四、 实验方案

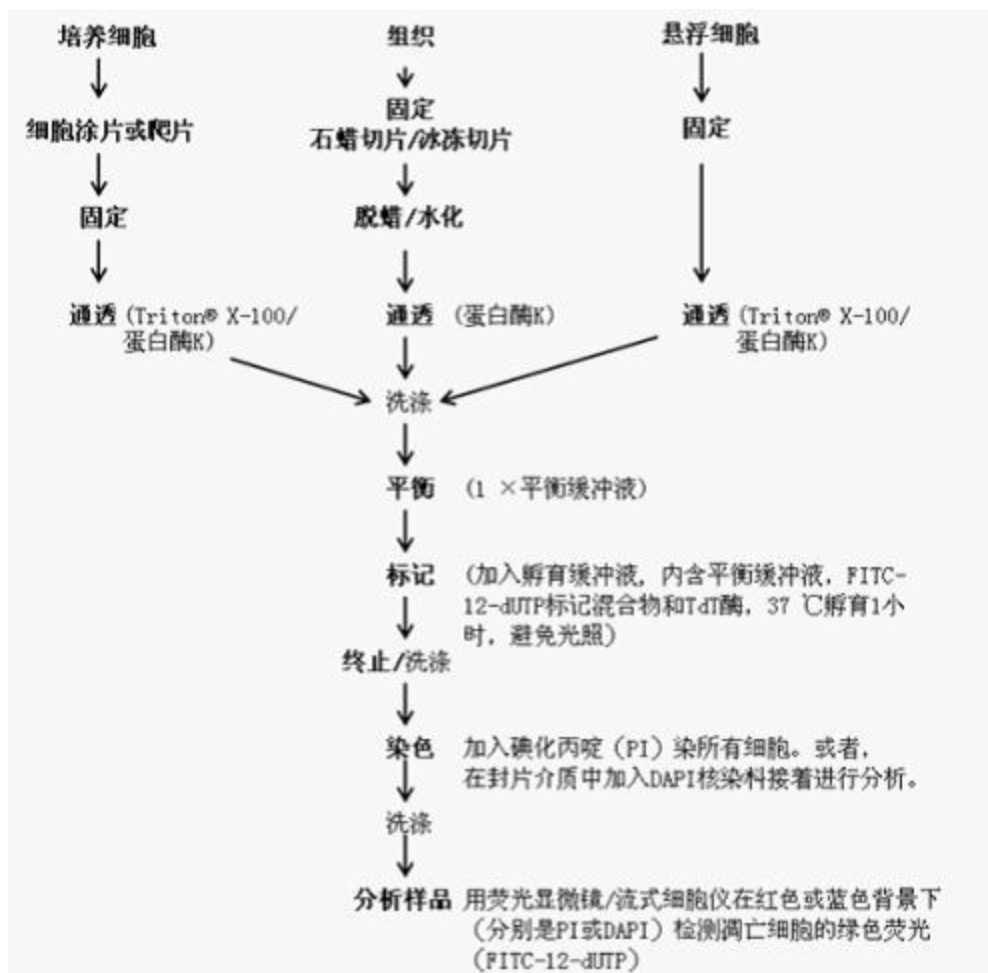


图 1. 实验流程概览

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话: 86-021-51873168 传真: 86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

4.1 样本预处理方案

A. 石蜡包埋组织切片

- 1、室温下将石蜡组织切片放入二甲苯中浸泡 5 分钟。更换新的二甲苯再浸泡 5 分钟以彻底脱掉石蜡。
- 2、室温下用 100%乙醇浸泡切片 5 分钟，更换新的 100%乙醇再浸泡 5 分钟。
- 3、室温下用梯度乙醇（90、80、70%）各浸洗 1 次，每次 3 分钟，逐渐增加水分。
- 4、用 PBS 轻轻润洗切片，并用滤纸小心吸干玻片上样本周围多余的液体。这时可用石蜡笔或疏水笔在样品周围描绘样品分布的轮廓，便于下游透性处理和平衡标记操作。在实验过程中，切勿让样品干燥。处理好的样本放在湿盒中保持样本的湿润。
- 5、按 1:100 的比例，用 PBS 作为稀释液来稀释 2mg/ml 的蛋白酶 K 溶液，使其终浓度为 20 μ g/ml。每个样本需要 100 μ L 蛋白酶 K 溶液。
- 6、每个样本上滴加 100 μ L 浓度为 20 μ g/ml 的蛋白酶 K 溶液，使其被全部覆盖，室温孵育 20 分钟。**注意：**蛋白酶 K 帮助组织和细胞对后续步骤的染色试剂通透。孵育时间过长会增加组织切片在后续洗涤步骤中从载玻片上脱落的风险，过短则可能造成透性处理不充分，影响标记效率。为得到最好的结果，可能需要优化蛋白酶 K 孵育的时间。
- 7、用 PBS 溶液润洗样本。轻轻去掉多余液体，并用滤纸小心吸干载玻片上样本周围的液体。处理好的样本放在湿盒中保持样本的湿润。

B. 组织冰冻切片

该操作流程与石蜡包埋组织切片相似，除了将脱蜡步骤替换为短暂的水化步骤，并将蛋白酶 K 的处理时间缩短到 10 分钟。在进行该实验检测前需固定冰冻组织。为了避免在清洗步骤中的样本在玻片上损失，**建议不用洗瓶清洗**，而是将玻片浸在 PBS 溶液中 2-3 次进行清洗。**注意：在操作中避免样本干燥！**

- 1、将玻片浸没在 4%多聚甲醛溶液（溶于 PBS）中，室温孵育 15 分钟。
- 2、轻轻去掉多余液体，并用滤纸小心吸干载玻片上样本周围的液体。

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话：86-021-51873168 传真：86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

- 3、将玻片浸没在 PBS 溶液中，室温孵育 15 分钟。
- 4、轻轻去掉多余液体，并用滤纸小心吸干载玻片上样本周围的液体。这时可用石蜡笔或指甲油在样品周围描绘样品分布的轮廓，便于下游透性处理和平衡标记操作。
- 5、按 1:100 的比例，用 PBS 作为稀释液来稀释 2mg/ml 的蛋白酶 K 溶液，使其终浓度为 20 μ g/ml。每个样本需要 100 μ L 蛋白酶 K 溶液。
- 6、每个样本上滴加 100 μ L 浓度为 20 μ g/ml 的蛋白酶 K 溶液，使其被全部覆盖，室温孵育 10 分钟。（**注意：**蛋白酶 K 帮助组织和细胞对后续步骤的染色试剂通透。孵育时间过长会增加组织切片在后续洗涤步骤中从载玻片上脱落的风险，过短则可能造成透性处理不充分，影响标记效率。为得到最好的结果，可能需要优化蛋白酶 K 孵育的时间。）
- 7、在盛有 PBS 溶液的敞口烧杯中浸没清洗样本 2-3 次。
- 8、轻轻去掉多余液体，并用滤纸小心吸干载玻片上样本周围的液体。处理好的样本放在湿盒中保持样本的湿润。

C. 细胞爬片/涂片

细胞爬片的准备：在 Lab-Tek® 载玻片小室（Chamber Slides）上培养贴壁细胞。在凋亡诱导处理之后，用 PBS 洗两遍载玻片。进入后续实验。

细胞涂片的准备：

- a. 多聚赖氨酸包被的载玻片的准备：吸取 50 - 100 μ 10.01%（重量体积比）多聚赖氨酸水溶液（Sigma Cat.# P9155 或 Sigma Cat.# P8920，1:10 用水稀释）滴至每一片预清洗过的玻璃载玻片的表面。在将要用于固定细胞的区域将多聚赖氨酸溶液涂散为一薄层。在载玻片干了之后，迅速用去离子水漂洗，然后让包被的载玻片在空气中晾干 30-60 分钟。多聚赖氨酸包被的载玻片在使用前能在室温储存数月。
- b. 以大概 2×10^7 个细胞/ml 的浓度将细胞重悬在 PBS 中。吸 50 - 100 μ l 细胞悬液滴于多聚赖氨酸包被的载玻片上。用一片干净的载玻片轻柔的涂开细胞悬液。进入后续实验。

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话：86-021-51873168 传真：86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

- 1、固定细胞，将载玻片浸入装有 4%新鲜配制于 PBS 中的多聚甲醛的染色缸中，在 4℃放置 25 分钟。
- 2、洗涤载玻片，将其浸入 PBS 中，室温放置 5 分钟。重复用 PBS 洗一次。
轻轻去掉多余液体，并用滤纸小心吸干载玻片上样本周围的液体。这时可用石蜡笔或指甲油在样品周围描绘样品分布的轮廓，便于下游透性处理和平衡标记操作。
- 3、按 1:100 的比例，用 PBS 作为稀释液来稀释 2mg/ml 的蛋白酶 K 溶液，使其终浓度为 20μg/ml。每个样本需要 100μL 蛋白酶 K 溶液。
- 4、每个样本上滴加 100μL 浓度为 20μg/ml 的蛋白酶 K 溶液，使其被全部覆盖，室温孵育 5 分钟（也可浸于 0.2% 配制于 PBS 中的 Triton® X-100 溶液中，室温孵育 5 分钟进行通透处理）。**注意：**蛋白酶 K 帮助组织和细胞对后续步骤的染色试剂通透。孵育时间过长会增加组织切片在后续洗涤步骤中从载玻片上脱落的风险，过短则可能造成透性处理不充分，影响标记效率。为得到最好的结果，可能需要优化蛋白酶 K 孵育的时间。
- 5、在盛有 PBS 溶液的敞口烧杯中浸没清洗样本 2-3 次。
- 6、轻轻去掉多余液体，并用滤纸小心吸干载玻片上样本周围的液体。处理好的样本放在湿盒中保持样本的湿润。

4.2. DNA 酶处理阳性对照的步骤（可选的）

检测 DNA 断裂的**阳性对照**可下所述进行。在样本通透处理之后，用 DNA 酶 I 处理细胞来准备阳性对照载玻片。

注意：DNA 酶 I 处理固定的细胞会引起染色体 DNA 的断裂，产生许多可标记的 DNA 3' -末端。下面叙述的流程通常会引起被处理的大多数细胞显现绿色荧光。

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话：86-021-51873168 传真：86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

- 1、加 100 μ l DNA 酶 I 缓冲液到固定的细胞上，室温孵育 5 分钟。
- 2、轻叩掉液体，加入 100 μ l 含 5.5 - 10 units/ml DNA 酶 I 的缓冲液，室温孵育 10 分钟。
- 3、轻叩载玻片去掉多余的液体，并将载玻片在装有去离子水的染色缸中彻底洗 3 - 4 次，该染色缸是专门用于阳性对照的。

注意：阳性对照载玻片必须使用**单独的**染色缸。否则，来自阳性对照载玻片上残余的 DNA 酶 I 活性可能会在实验载玻片上引入高的背景。

4.3. 标记及检测

- 1、按 1: 5 的比例用去离子水稀释 5 \times TdT 平衡缓冲液（每个样本需用 20 μ l 5 \times 缓冲液和 80 μ l 去离子水混合稀释成 100 μ l 缓冲液）。
- 2、滴加 100 μ l 1 \times TdT 平衡缓冲液使其全部覆盖待检样本区域，室温孵育 10-30 分钟。或者将载玻片放入一个含有 1 \times TdT 平衡缓冲液的缸中，保证缓冲液没过样本。在平衡细胞的同时在冰上解冻 FITC-12-dUTP 标记混合物，并且依照表 1，准备足够量的用于所有实验的和可选阳性对照反应的 TdT 孵育缓冲液。对于面积小于 5cm² 的一个标准反应，其体积是 50 μ l，用 50 μ l 乘以实验和阳性对照反应的数目来确定所需 TdT 孵育缓冲液的总体积。对于表面积更大的样本，可成比例的增大试剂体积。
- 3、在平衡后的区域周围用吸水纸吸掉 100 μ l 平衡缓冲液中的大部分，然后在 5cm² 面积的细胞上加上 50 μ l TdT 孵育缓冲液。不要让细胞干掉。

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话：86-021-51873168 传真：86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

表 1. 准备用于实验的和可选阳性对照反应的 TdT 孵育缓冲液

组分	成分体积 (μ l / 50 μ l 体系)		样本数目 (实验反应+可选阳性对照)	=	成分体积 (μ l)
去离子水	34	×	_____	=	_____
5×TdT 平衡缓冲液	10	×	_____	=	_____
FITC-12-dUTP 标记混合物	5	×	_____	=	_____
TdT 酶	1	×	_____	=	_____

适用于阴性对照：准备一份不含 TdT 酶的对照孵育缓冲液，用去离子水替代 TdT 酶

4、把塑料盖玻片盖在细胞上以保证试剂的平均分布。在湿盒的底部放上用水浸湿的纸巾。将载玻片置于湿盒内，在 37℃ 孵育 60 分钟。将湿盒用铝箔纸包裹以避免光照。

注意：塑料盖玻片在使用前可以切成两半。折起盖玻片的边缘以便于移除和操作。

在第 3 步完成之后，载玻片要避光。

5、移除塑料盖玻片，并将切片置于 PBS 溶液中室温孵育 5 分钟。

6、轻轻去掉多余液体，换用新鲜的 PBS 溶液室温孵育 5 分钟。重复该步骤 1 次。

7、用滤纸轻轻擦掉样本周围及背面的 PBS 溶液。

注意：为了降低背景，载玻片在用 PBS 洗一遍之后，可再用含 0.1% Triton® X-100 和 5mg/ml BSA 的 PBS 洗三次，每次 5 分钟，这样游离的未反应的标记物可以清除较干净。

8、样本在染色缸中染色，在黑暗中将载玻片浸入装有 PI 溶液的染色缸，室温放置 5 分钟，此处 PI 溶液是用 PBS 新配稀释到 1 μ g/ml 的。

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话：86-021-51873168 传真：86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

可选操作：样本在染色缸中染色，在黑暗中将载玻片浸入装有 DAPI 溶液的染色缸，室温放置 5 分钟，此处 DAPI 溶液是用 PBS 新配稀释到 $2\mu\text{g/ml}$ 的。

9、洗涤样本，将载玻片浸入去离子水中，室温放置 5 分钟。重复两次，总共洗三次。

10、滴干载玻片上多余的水并且用吸水纸擦拭细胞周边的区域。

11、立即在荧光显微镜下分析样本，用标准的荧光过滤装置在 $520 \pm 20\text{nm}$ 的荧光下观察绿色荧光；在 $>620\text{nm}$ 下观察 PI 的红色荧光，或在 460nm 观察蓝色的 DAPI。如有必要，载玻片能在 4°C 黑暗条件下存放过夜。

注意：PI/DAPI 能将凋亡和未凋亡的细胞都染成**红色/蓝色**。只在凋亡的细胞核中才有 FITC-12-dUTP 掺入而定位的**绿色**荧光。

4. 4. 流式细胞术检测悬浮细胞的步骤

- 1、将 $3 - 5 \times 10^6$ 个细胞用 PBS 在 4°C 离心 ($300 \times g$) 洗两次，然后重悬在 0.5ml PBS 中。
- 2、固定细胞，加入 5ml 1% 配制于 PBS 中的多聚甲醛溶液，冰上放置 20 分钟。
- 3、细胞在 4°C $300 \times g$ 离心 10 分钟，去上清并且重悬于 5ml PBS。重复洗一次并把细胞重悬在 0.5ml PBS 中。
- 4、通透细胞，加入 5ml 冰上预冷的 70% 乙醇，在 -20°C 孵育 4 小时。细胞能在 70% 乙醇中 -20°C 的条件下保存一周。或者，细胞可用 0.2% 配制于 PBS 中的 Triton® X-100 溶液通透，室温放置 5 分钟。
- 5、细胞在 $300 \times g$ 离心 10 分钟并且重悬于 5ml PBS。重复离心并把细胞重悬在 1ml PBS 中。
- 6、转移 2×10^6 个细胞至一个 1.5ml 的微量离心管。
- 7、 $300 \times g$ 离心 10 分钟，去上清并把沉淀重悬在 $80\mu\text{l}$ $11\times$ 平衡缓冲液（按 $1:5$ 的比例用去离子水稀释 $5\times$ TdT 平衡缓冲液）中。室温孵育 5 分钟。
- 8、在平衡细胞的同时，在冰上融解 FITC-12-dUTP 标记混合物，并且依照表 1，准备足够量的用于所有反应的 TdT 孵育缓冲液。对于 2×10^6 个细胞的一个标准反应，其体积是 $50\mu\text{l}$ ，用 $50\mu\text{l}$ 乘上反应数目来确定所需 TdT 孵育缓冲液的总体积。

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话：86-021-51873168 传真：86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

- 9、细胞在 $300 \times g$ 离心 10 分钟，去上清并把沉淀重悬在 50μ l TdT 孵育缓冲液中。37°C 孵育 60 分钟，避免光照。每隔 15 分钟用微量移液器轻轻重悬细胞。
- 10、加入 1ml 20mM EDTA 终止反应。用微量移液器轻柔混匀。
- 11、 $300 \times g$ 离心 10 分钟，去上清并把沉淀重悬在 1ml 0.1% 配制于 PBS 中的 Triton® X-100 溶液，其中含 5mg/ml 牛血清白蛋白（BSA）。重复一次，总共洗两次。
- 12、 $300 \times g$ 离心 10 分钟，去上清并把细胞沉淀重悬在 0.5ml PI 溶液中（用 PBS 新配稀释到 5μ g/ml），其中包含 250μ g 无 DNA 酶的 RNA 酶 A。
- 13、在黑暗中室温孵育细胞 30 分钟。
- 14、用流式细胞仪分析细胞。测量 520 ± 20 nm 的 FITC-12-dUTP 的绿色荧光和 >620 nm 的 PI 的红色荧光。

注意：PI 将凋亡和未凋亡的细胞都染成红色。只在凋亡的细胞核中有 FITC-12-dUTP 掺入而定位的绿色荧光。

五、 操作实例：喜树碱（Camptothecin）诱导的 HL-60 细胞凋亡的检测

在含 10%胎牛血清、2mM 谷氨酰胺、1%的青霉素和链霉素的 RPMI 1640 培养液中培养 HL-60 细胞，置于 37°C，5% CO₂ 培养箱中。将细胞密度调至 6×10^5 个细胞/ml。喜树碱处理的终浓度为 0.2μ g/ml（储液溶解在 DMSO 中），在 37°C，5% CO₂ 培养箱中孵育 5 小时。阴性对照的细胞用等体积的 DMSO 处理，并且在相同的条件下孵育。收细胞，按 4.1.C 节方案制备细胞涂片，用荧光显微镜分析或按 4.4 节方案用流式细胞仪来分析。

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

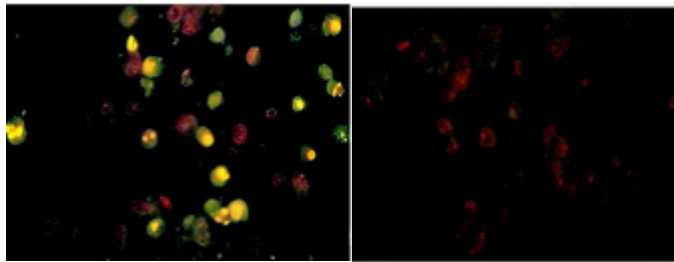
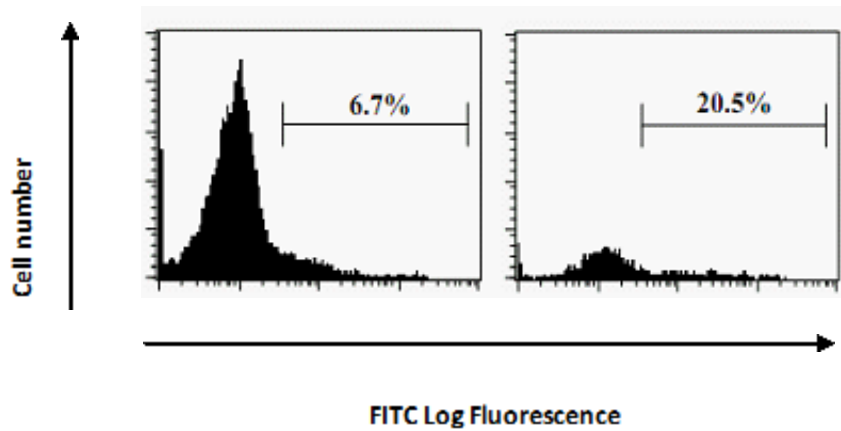
www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话：86-021-51873168 传真：86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.



control

treated

六、 问题诊断

Q. 高背景（如，未凋亡细胞的强绿色荧光背景）

A. 非特异性掺入 FITC-12-dUTP。不要让细胞干掉；

标记反应完成，载玻片在用 PBS 洗一遍之后，可再用含 0.1% Triton® X-100 和 5mg/ml BSA 的 PBS 洗三次，每次 5 分钟。

Q. 荧光信号弱

A. 蛋白酶 K 或 Triton® X-100 的通透不充分。 通过调整通透剂的孵育时间优化通透步骤。

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话：86-021-51873168 传真：86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

Q. 组织切片从载玻片上脱落

A. 组织切片粘附之前的包被不充分。在展片之前,用 3-氨丙基三乙氧基硅烷(3-aminopropyl triethoxysilane, TESPA; Sigma Cat.# A3648)包被显微镜载玻片比多聚赖氨酸(poly-L-lysine)效果更好。

Q. 最后显微镜或流式细胞仪分析只剩下很少的细胞

A. 在操作过程中丢失大量细胞:

提高起始的细胞量。

在制备贴到显微镜载玻片的细胞悬液时,离心过程中用含 1% BSA 的 PBS 洗细胞。

在制备细胞悬液时,离心过程中用含 1% BSA 的 PBS 洗细胞。

七、 缓冲液及溶液组分

1X PBS (pH 7.4)

137mM NaCl

2.68mM KCl

1.47mM KH_2PO_4

8.1mM Na_2HPO_4

PI 溶液 (1mg/ml)

称取 10mg PI 溶于 10ml PBS 中。在 0 - 4℃ 避光储存溶液。使用时适量稀释。

DAPI 溶液 (1mg/ml)

称取 10mg DAPI 溶于 10ml PBS 中。在 0 - 4℃ 避光储存溶液。使用时适量稀释。

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话: 86-021-51873168 传真: 86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

DNA 酶 I (DNase I) 缓冲液

40mM Tris-HCl (pH 7.9)

10mM NaCl

6mM MgCl₂

10mM CaCl₂

1% 甲醛溶液

将 6.25ml 16% 不含甲醇的甲醛混入 90ml PBS。加几滴 1N 氢氧化钠，混匀并调节 pH 值至 7.4。用 PBS 定容至 100ml。

每次使用前新鲜配制。

4% 甲醛溶液

将 25ml 16% 不含甲醇的甲醛混入 70ml PBS。加几滴 1N 氢氧化钠，混匀并调节 pH 值至 7.4。用 PBS 定容至 100ml。

每次使用前新鲜配制。

4% 多聚甲醛溶液

在通风橱中称取 4g 多聚甲醛，加 PBS 至 100ml。装于密闭容器中在 65℃ 水浴加热溶解 2 小时。4℃ 储存溶液，

在 4℃ 至少两周是稳定的。

10% Triton® X-100 溶液

在烧杯中混合 85ml 高压灭菌去离子水和 10ml Triton® X-100 溶液，放置于搅拌处用磁力搅拌棒混匀。用水定

溶至 100ml。

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话：86-021-51873168 传真：86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.

八、相关产品

M3023-1	Annexin V EGFP/PI 双染法凋亡检测试剂盒	25 assays
M3023-2	Annexin V EGFP/PI 双染法凋亡检测试剂盒	50 assays
M3023-3	Annexin V EGFP/PI 双染法凋亡检测试剂盒	100 assays
M3023-4	Annexin V EGFP/PI 双染法凋亡检测试剂盒	400 assays
M3021-1	Annexin V FITC/PI 双染法凋亡检测试剂盒	25 assays
M3021-2	Annexin V FITC/PI 双染法凋亡检测试剂盒	50 assays
M3021-3	Annexin V FITC/PI 双染法凋亡检测试剂盒	100 assays
M3021-4	Annexin V FTIC/PI 双染法凋亡检测试剂盒	400 assays

上海美季生物技术有限公司

上海市中山南二路 777 号 2 号楼 2303

www.mbchemic.com

Mbchem™ 品牌为上海美季生物技术有限公司所有

电话：86-021-51873168 传真：86-021-51875086-800

本产品仅供科学研究使用

This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.