

# Tunel ( 凋亡 )

TUNEL 是分子生物学与形态学相结合的一种研究方法。细胞凋亡过程中，染色体 DNA 发生双链断裂或单链断裂，从而产生大量带有游离 3'末端的 DNA 片段。脱氧核糖核苷酸末端转移酶 ( TdT ) 可以将荧光素、过氧化物酶、碱性磷酸化酶或生物素形成的衍生物标记到 DNA 的 3'-末端，从而对凋亡细胞或凋亡小体进行原位染色，检测细胞凋亡。

TUNEL 法是在细胞和组织层次上进行生物学反应，结果直观，便于观察；可检测出极少量的凋亡细胞，灵敏度远比一般的组织化学和生物化学测定法要高。

## 实验步骤：

1. 充分脱蜡和水化
2. 3%过氧化氢甲醇中浸洗 10min，抑制内源性过氧化氢酶
3. 用蛋白酶 K ( 20 $\mu$ g/ml 溶于 Tris/HCl 中，pH7.4~8.0 ) 室温孵育 15min
4. PBS 洗 2 次，每次 5min，擦干样品周围的水
5. 此阶段配制 TUNEL 反应混合物——从试剂 2 中取出 100 $\mu$ l 标记溶液作为两个阴性对照；将试剂 1 中取 5 $\mu$ l+试剂 2 中 45 $\mu$ l 标记液中，配成 50 $\mu$ l TUNEL 反应混合物混匀 ( 即配即用，4 $^{\circ}$ C避光 )
6. 标记反应 滴加 50 $\mu$ l 的 TUNEL 反应混合液，在湿盒中 37 $^{\circ}$ C孵育 60min。PBS 洗 3 次，每次 5min，至此样品可

在荧光显微镜下 ( 绿色 ) 分析结果

7. 信号转化和分析：擦干样品周围的水分，加入 50 $\mu$ l 转化剂-POD，湿盒中 37 $^{\circ}$ C孵育 30min。PBS 洗 5min\*5 次

8. 加入 50~100 $\mu$ l DAB 底物溶液，室温 ( 10~25 $^{\circ}$ C ) 孵育 5 min，PBS 洗 5min\*3 次

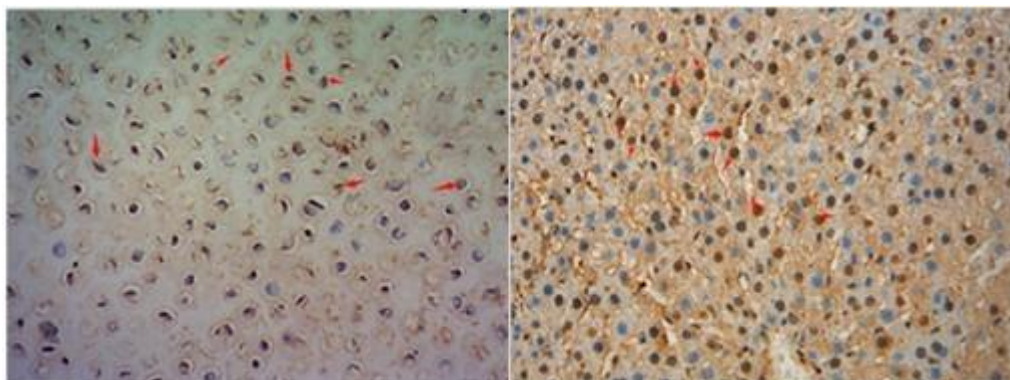
9. 中性树胶或者甘油封片 ( 在封片前可以复染 )，光镜下分析结果

## 我们提供：

1. 提供完成实验的玻片

2. 提供具体的实验方法、步骤、所用试剂、仪器、及相关分析数据等，实验结果将以电子或书面形式提交给您

### 结果示意图：



### 服务周期：

服务内容	说明	价格/元	实验周期
Tunel 凋亡	提供白片	300 元/张	3 个工作日

### 温馨提醒：

1. 提供新鲜的组织、固定过的组织、石蜡包埋的组织、细胞爬片、石蜡切片、冰冻切片
2. 提供具体的拍照部位