

## Tunel 检测试剂盒（DAB 法）

Cat Number: GPB18256

Store at -20℃ for 6 months, 避光

For Research Use Only

### 一 试剂盒说明

#### 产品应用:

本试剂盒应用于冰冻切片、石蜡切片或细胞爬片的Tunel检测实验。请于步骤2开始使用本试剂盒内试剂。

### 二 试剂盒组份

组分名称	50 tests	保存条件
通透试剂	60ul	
Tunel 试剂 A	40ul	
Tunel 试剂 B	27ul	-20℃, 避光
Tunel 检测液	6ml	
HRP 试剂	3ul	
稀释液	7ml	

### 三 操作步骤

#### 试剂准备

1. 取 1ul 通透试剂溶于 500ul 稀释液, 做为**通透试剂工作液**, 混匀待用 (此用量为 1 个样本, 可根据样本数量进行准备)。
2. 取 1ul HRP 试剂溶于 1ml 稀释液, 做为**HRP 试剂工作液**, 混匀避光待用。

## 实验步骤

1. **对细胞爬片**: 细胞爬片 4%多聚甲醛固定后, PBS 洗涤 3 次, 每次 5min, 待用。

对于冰冻切片: 冰冻切片恢复室温后 PBS 洗涤 5min, 去掉包埋剂, 4%多聚甲醛室温固定 30min, PBS 洗涤 2 次, 每次 5min, 待用。

对于石蜡切片: 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-85%酒精 5min-75%酒精 5min-蒸馏水洗, 待用。

2. **样本通透**: 滴加 50ul **通透试剂工作液** 37℃孵育 10-30min(不同样本通透时间需自行摸索)。

3. **预孵育**: 弃掉通透试剂工作液, PBS 洗涤 3 次, 每次 5min, 滴加 50ul **Tunel 检测液** 37℃孵育 5min。

4. **Tunel 试剂孵育**: 弃掉 Tunel 检测液, 滴加 50ul **Tunel 试剂**于湿盒内 37℃孵育 1-2h, **Tunel 试剂**按下表配制。

	1 个样本	5 个样本	10 个样本
Tunel 试剂 A	0.75ul	3.8ul	7.5ul
Tunel 试剂 B	0.5ul	2.5ul	5ul
Tunel 检测液	50ul	250ul	500ul

5. **HRP 试剂孵育**: 弃掉 **Tunel 试剂**, PBS 洗涤 3 次, 每次 5min, 滴加 50ul **HRP 试剂工作液** 37℃孵育 30min。

6. **DAB 显色**: 弃掉 **HRP 试剂工作液**, PBS 洗涤 3 次, 每次 5min, 滴加 50-200ul 新鲜配制 DAB 溶液, 显微镜控制显色。

7. **复染核**: 显色完全后, 蒸馏水或自来水冲洗, 苏木素复染, 1%盐酸酒精分化 (5~10s), 自来水冲洗, 氨水返蓝, 流水冲洗。

8. **透明、封片**: 切片经过梯度酒精 (70-100%) 1min 一个梯度, 脱水干燥, 二甲苯透明, 中性树胶封固。

9. **镜检**: 苏木素复染的细胞核为蓝色, Tunel 阳性表达为棕黄色。