

# TransDetect® In Situ Click TUNEL Imaging Kit-594 Fluorophore

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FA321

保存: -20°C避光保存一年。

## 产品说明

TransDetect® In Situ Click TUNEL Imaging Kit-594 Fluorophore 是一种基于Click反应的TUNEL检测试剂盒。在细胞凋亡进程中, 基因组DNA双链或单链断裂, 暴露出大量的粘性3'-OH末端。EdUTP是一种由小分子炔烃基团修饰的dUTP, 可在末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)催化下, 更容易地与3'-OH结合进而掺入到DNA末端。在Click作用下, 叠氮化物和EdUTP上的炔烃基团之间发生共价反应, 借助叠氮化物上的荧光标记, 可实现更灵敏的TUNEL检测。

## 特点

- 毒性极低, 不含有传统TUNEL反应所依赖的高毒性有机砷化合物缓冲体系。
- 灵敏度高, 特异性强。
- 操作简单、快速。
- 可用于不同细胞或组织样本的检测。

## 产品组成

Component	FA321-01 (10 rxns)	FA321-02 (50 rxns)
TdT Reaction Buffer-III (TRB-III)	5 ml	25 ml
EdUTP-III	100 µl	500 µl
TdT-III	150 µl	750 µl
Click Reaction Buffer 594 (CRB-594)	5 ml	25 ml
Reaction Buffer Additive (RBA)	250 µl	1.25 ml
Hoechst 33342	50 µl	250 µl
DNase I (3 units/µl)	50 µl	250 µl
10×DNase I Buffer	500 µl	2.5 ml

## 操作步骤

### 自备

Product Name	Catalog
PBS (1×)	TransGen, Cat. FG701-01

甲醛固定液 (含4%多聚甲醛的1×PBS)

细胞通透液 (含0.1% Triton X-100的1×PBS)

3% BSA (1×PBS配制)

### 细胞爬片

以24孔细胞培养板为例

- 1、准备1~2×10<sup>5</sup>个细胞接种于24孔细胞培养板中, 培养或药物处理过夜。
- 2、取出细胞培养板, 弃掉培养基, 用1 ml PBS清洗2次。
- 3、每孔加入1 ml甲醛固定液, 室温固定15分钟, 吸净固定液, 用1 ml PBS清洗2次。
- 4、每孔加入1 ml细胞通透液, 室温通透15分钟, 吸净通透液, 用1 ml PBS清洗2次。
- 5、(阳性对照, 可选) DNase I处理: 用细胞通透液稀释10×DNase I Reaction Buffer至1×DNase I Reaction Buffer, 加入DNase I (终浓度为30 units/ml) 混匀。配制完成后冰上放置, 15分钟内使用。每孔加入500 µl, 室温孵育30分钟, PBS清洗2次, 4分钟/次。



Reaction Components	Volume
细胞通透液	445 $\mu$ l
10 $\times$ DNase I Reaction Buffer	50 $\mu$ l
DNase I	5 $\mu$ l
Total Volume	500 $\mu$ l

6、TdT反应：按照下表配制TdT反应体系，配制完成后冰上放置，15分钟内使用。每孔加入500  $\mu$ l TdT反应液，37 $^{\circ}$ C 培养箱避光孵育1小时。

Reaction Components	Volume
TRB-III	475 $\mu$ l
EdUTP-III	10 $\mu$ l
TdT-III	15 $\mu$ l
Total Volume	500 $\mu$ l

7、3% BSA 清洗2次，4分钟/次。

8、按照下表配制染色工作液，配制完成后冰上放置，15分钟内使用。每孔加入500  $\mu$ l 染色液，室温避光孵育30分钟，PBS清洗3次。

Reaction Components	Volume
CRB-594	475 $\mu$ l
RBA	25 $\mu$ l
Total Volume	500 $\mu$ l

9、用PBS按照1000:1的比例稀释Hoechst，配制成Hoechst染色液。每孔加入500  $\mu$ l Hoechst染色液，室温避光孵育15分钟，PBS清洗3次。

#### 组织切片（以小鼠脾脏石蜡组织4 $\mu$ m横切片为例）

1、脱蜡复水：采用二甲苯浸泡脱蜡及梯度乙醇（95%、90%、85%、75%、50%）浸泡复水。复水后的切片放入PBS浸没静置5分钟，取出切片吸去周围液体，保持切片表面湿润。

2、用细胞通透液室温通透15分钟，吸净通透液，PBS清洗切片。

3、以下步骤同细胞爬片操作步骤5-9。

#### 图像获取及分析

通过荧光或共聚焦显微镜检测荧光，594 Fluorophore最大激发波长为590 nm，最大发射波长为617 nm。

#### 注意事项

- 所有组分保存在-20 $^{\circ}$ C，合理安排实验避免各组分反复冻融。
- CRB-594应保证避光保存和使用。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202209

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

