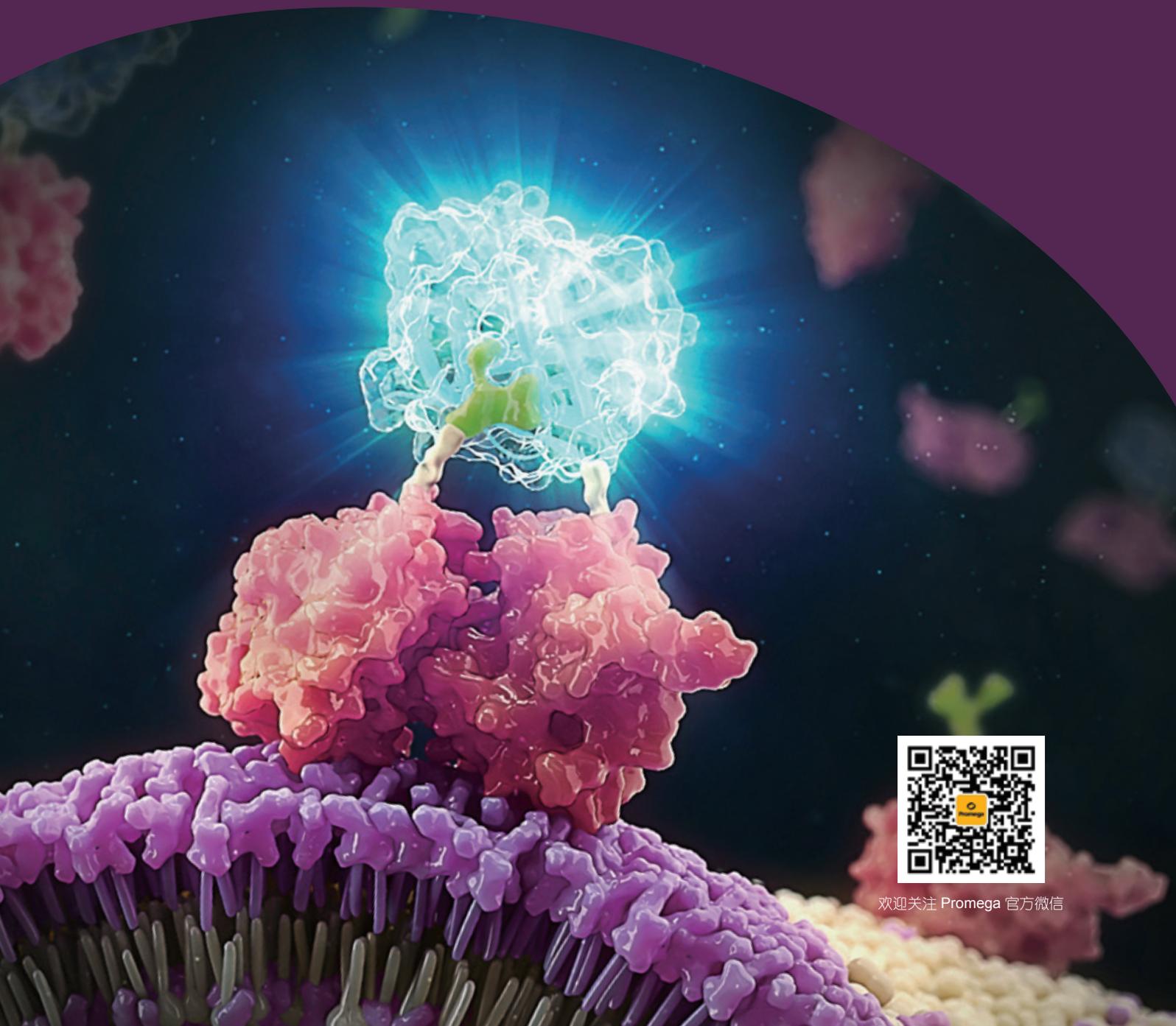


Apoptosis

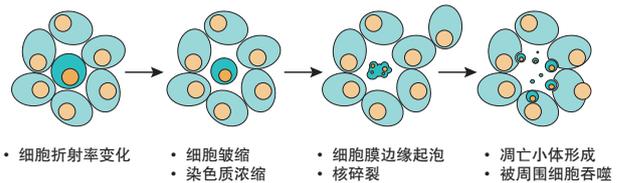
细胞凋亡检测解决方案



欢迎关注 Promega 官方微信

细胞凋亡也被称为“程序性细胞死亡”，是一种清除机体自身细胞的多步骤过程。与坏死引起的细胞死亡不同，凋亡是一种由外部因素（外源性）或细胞内因素（内在）影响而产生的生理过程。凋亡细胞形态上表现为细胞萎缩，并具有 caspase 激活和 DNA 片段化为特定长度的明显特征，细胞膜在这些过程中仍保持完整。胞膜凸起和小泡形成，导致了“凋亡小体”的产生进而被巨噬细胞或邻近细胞吞噬。不同于坏死，凋亡不引发炎症反应，并且相邻的细胞保持完整。Caspase 在细胞凋亡过程中发挥关键的“启动”和“效应”作用。Promega 提供多种试剂盒分析细胞凋亡过程中的细节。

细胞凋亡 Apoptosis



4710MA

凋亡检测的主要方法



形态学

- 显微镜观察
- 荧光显微镜观察
- 透射电子显微镜观察



磷脂酰丝氨酸外翻分析 (AnnexinV 法)

- 实时活细胞细胞分析检测
- 流式细胞仪
- 荧光显微镜



DNA 片段检测

- TUNEL 法
- 凝胶电泳
- DNA Ladder 测定
- 流式细胞仪分析 DNA 含量

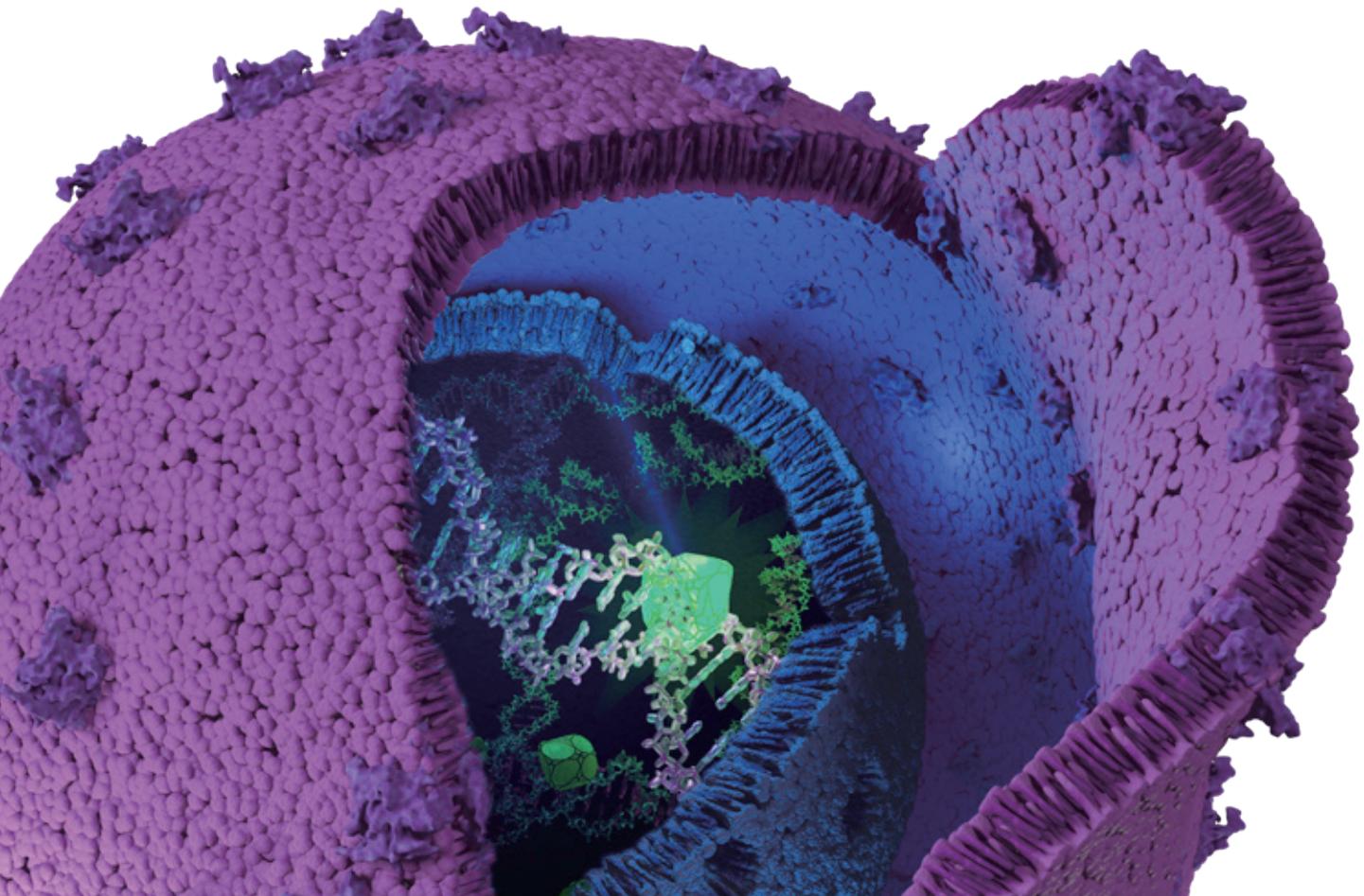


Caspase 活性检测

- Caspase-3/7
- Caspase-8
- Caspase-9
- 其他凋亡相关蛋白检测如 PARP 蛋白等

目录

1. 细胞凋亡及常用方法	2
2. 磷脂酰丝氨酸 (PS) 膜外翻实时检测	4
3. Caspase 检测	6
• 发光法 Caspase 3/7 检测	7
• 荧光法 Caspase-3/7 检测	9
• CaspACE™ FITC-VAD-FMK In Situ Marker	10
• 双重检测——ApoLive-Glo™ Multiplex Assay	11
• 三重检测——ApoTox-Glo™ Triplex Assay	12
4. TUNEL 检测法——荧光法及显色法	14



磷脂酰丝氨酸 (PS) 膜外翻实时检测

RealTime-Glo™ Annexin V Apoptosis and Necrosis Assay

RealTime-Glo™ Apoptosis and Necrosis Assay 是一种简单，非裂解性的实时监测凋亡进程的方法。无需处理多块多孔板、看复杂的处理过程和特殊的检测仪器。只需具有发光和荧光检测功能的多功能读板仪即可。此方法的原理是检测磷脂酰丝氨酸 (PS) 膜外翻来检测凋亡和检测膜完整性的丧失来测定继发性坏死。通过一个简单的发光信号来检测 Annexin V 结合，通过一个不透膜荧光 DNA 染料的信号变化来测定细胞膜完整性丧失。

产品优势

1. 持续监测细胞状态的变化

此方法可在化合物处理细胞时，重复测定同一孔的不同时间点的发光和荧光信号来确定化合物的效力，比终点法使用更少的多孔板和检测试剂。

- 适用于多种类型的培养细胞。
- 可实时检测剂量依赖和时间依赖的凋亡进程。
- 可与其他检测试剂叠加使用，从而获得更多的毒性发生机制的信息。

2. 多孔板检测，检测通量可放大

试剂直接添加到培养的细胞中，无需换液或清洗，可以直接在特殊的培养板中进行检查，可以方便扩展到高通量实验。

3. 操作简单

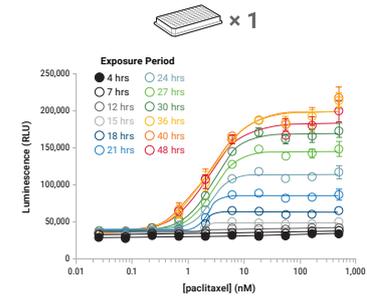
简单地将检测试剂加入多孔板，然后反复读取即可。

RealTime-Glo™ Annexin V Assay 检测原理



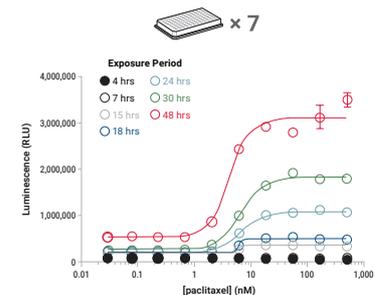
原理: 检测试剂中含有 2 个能与 PS 结合的 Annexin V 融合蛋白，分别带有 NanoLuc® luciferase Annexin V-LgBiT 和 Annexin V-SmBiT 的 2 个互补的结构域。同时还含有不能渗透入细胞膜的 DNA 染料。发光信号会保持在低水平直到 PS 外翻暴露，继而 annexin 融合蛋白与 PS 结合而相互接近形成有功能的萤光素酶，导致发光信号升高。荧光信号会在晚期凋亡阶段膜完整性丧失后才升高。

实时检测



上图：每个剂量的数据是使用同一块检测板，一次加入试剂，多时间点检测。

终点法检测



上图：终点检测法来重复相同的实验需要七个板来收集相同数量的数据点。

凋亡进程

化合物处理后，重复测定同一孔的不同时间点的发光和荧光信号，可揭示毒性刺激的效果并确定其作用机制。PS:Annexin V 结合和膜完整性丧失出现的时间差显示凋亡的类型及其引发的继发性坏死。

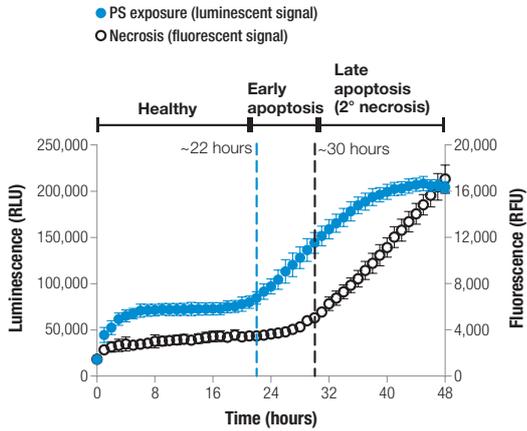


图 A: 在化合物处理后的凋亡及继发性坏死进程

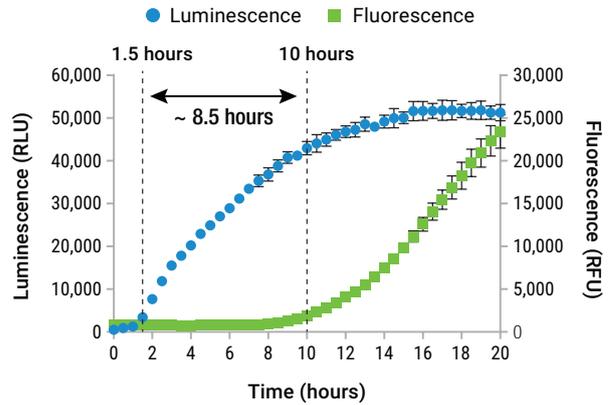
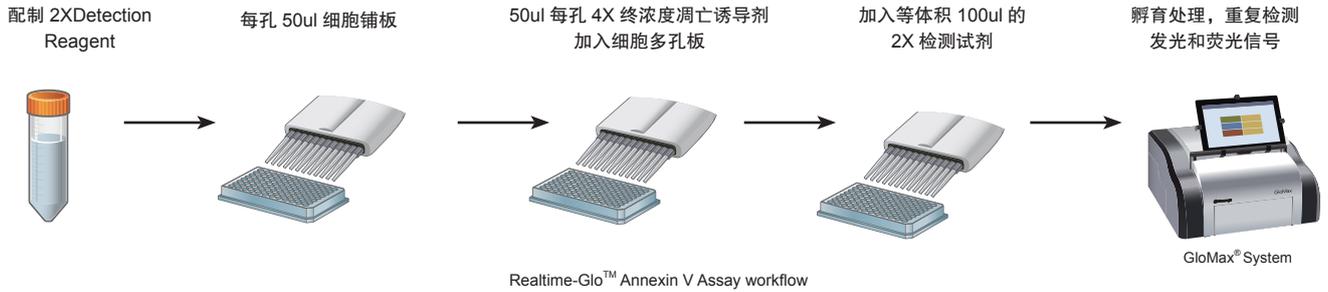


图 B: 在 DLD-1 细胞以 400ng/mL TRAIL 处理，化合物处理后依次重复检测发光信号 (RLU) 和荧光信号 (RFU)。

简要操作流程



更多关于 RealTime-Glo™ Annexin V Apoptosis and Necrosis Assay 的信息请浏览：www.promega.com/AnnexinVAssay

订购产品

产品	规格	目录号
RealTime-Glo™ Annexin V Apoptosis and Necrosis Assay	100 assays	JA1011
	1,000 assays	JA1012
RealTime-Glo™ Annexin V Apoptosis Assay* (此包装中不含坏死检测试剂)	100 assays	JA1000
	1,000 assays	JA1001

Caspase 检测概览

Caspase 在细胞凋亡中发挥关键作用。它们可通过多种信号通路被激活，其中一些激活 Caspase 的信号通路目前仍处在研究阶段。人们普遍认为凋亡启动酶 (Initiator) Caspase-8 的活化是通过死亡受体超家族的诱导。Caspase-8 随后激活效应酶 (Effector) Caspase-3 和 -7，而这些蛋白酶进而切割细胞内的众多蛋白质底物，最终导致细胞死亡。“内在”凋亡途径可能通过紫外线、病毒感染或细胞膜损害等因素诱发，可引起细胞色素 c 释放到胞质溶胶中，引起凋亡启动酶 Caspase-9 的激活，进而激活效应酶 Caspase-3 和 -7。

» Promega Caspase 检测试剂

	Caspase	生物学相关性	检测试剂盒	方法学	试剂盒优化用抑制剂
Effector Caspase	Caspase-3/7	凋亡通路中的主要效应酶。可被 Caspase-8 和 9 激活。通过酶解抗凋亡蛋白 (ICAD, Bcl-2, PARP, etc.) 引发细胞凋亡。	Caspase-Glo® 3/7 Assay	发光法	Caspase-3/7 inhibitor (Ac-DEVD-CHO)
			Apo-One® Homogeneous Caspase-3/7 Assay	荧光法	Caspase-3/7 inhibitor (Ac-DEVD-CHO)
Initiator Caspase	Caspase-8	受体介导的凋亡 (如受到 FasL, TNF-α 激活)。	Caspase-Glo® 8 Assay	发光法	Proteasome inhibitor (MG-132)
	Caspase-9	氧化应激、病毒感染等会导致线粒体损伤，引起细胞色素 C 释放，Caspase-9 与细胞色素 c 结合从而活化。	Caspase-Glo® 9 Assay	发光法	Proteasome inhibitor (MG-132)

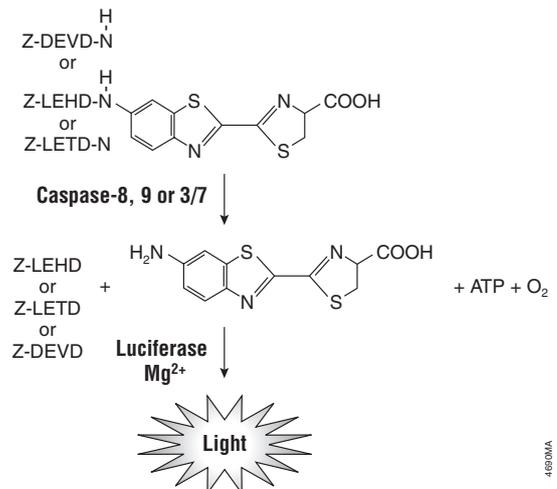
注: Caspase-Glo® 3/7, 8, 9 检测试剂盒可直接用于细胞培养物和纯酶制剂检测。本页出现的 Caspase-Glo® 系列产品均产生稳定的辉光型信号，反应原理相似。另有 Caspase-Glo® 1 Inflammasome Assay 供选择。

» Promega 商品化抑制剂

Caspase	目录号	规格	试剂盒优化用抑制剂
Caspase Inhibitor Z-VAD-FMK	G7231	50µl	泛 Caspase 抑制剂
	G7232	125µl	

» Caspase-Glo® 系列检测原理

每种 Caspase-Glo® 检测系统都使用了 caspase 特异性发光前体底物，同时 Caspase-Glo® 试剂中还存在 Ultra-Glo™ 重组萤光素酶。加入试剂后会导致细胞裂解，活化的 caspase 会剪切底物前体并释放萤光素酶底物，与萤光素酶相互作用后产生发光。



46800A

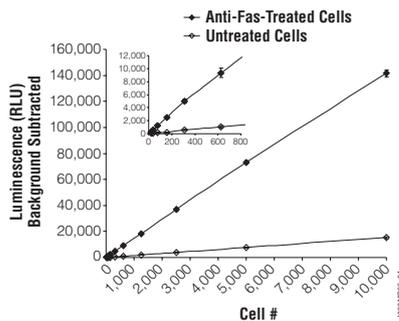
发光法 Caspase 检测——快速、灵敏

Caspase-Glo® 3/7 Assay

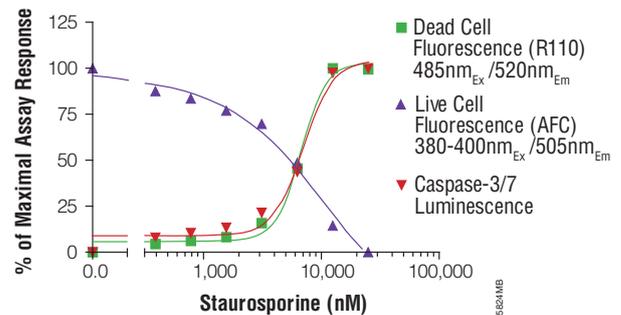
产品优势

- **简化细胞凋亡或 Caspase 检测：**“加入 - 混合 - 检测”的操作方案使该方法易于实现自动化。
- **使用更少的酶或细胞：**特异性强，极佳的信噪比和灵敏度，可在 96 或 384 孔板模式下检测。
- **减少检测时间：**不同于荧光检测法，此检测无需事先准备样品或手工操作，不需要额外的孵育时间，0.25-1 个小时即可达到最高反应灵敏度。
- **性能经过验证，可靠性强：**在纯酶检测和细胞检测时都有出色的 Z' 值。
- **可批量处理检测板：**延长的发光信号可长达 3 小时，轻松进行批处理；无需进样器。
- **获得更多信息：**能与其他 Promega 细胞学分析产品一起使用，进行叠加分析。

检测类型	发光法 (辉光型)
检测标志物	Caspase3 和 7
应用	凋亡研究, 抑制剂筛选, 兼容多重检测
样品类型	细胞系, 原代细胞, 酶学反应
检测步骤	一步法, 均质检测
操作时间	0.5-3 小时
灵敏度	100 个凋亡细胞 (96 孔板)
性能优异	Z' 值及信噪比高



上图: Caspase-Glo® 3/7 Assay 产生的发光在很宽的细胞数范围内呈线性。Jurkat 细胞用抗 Fas 单克隆抗体处理 4.5 小时以诱导细胞凋亡或不处理。将 Caspase-Glo® 3/7 试剂直接添加到 96 孔板的细胞中，培养 1 小时后记录发光。每个点代表 4 个孔的平均值。“无细胞”空白对照已从每个值中减去。



上图: 兼容多重检测: LN-18 细胞经 staurosporine 处理后，使用 MultiTox-Fluor Multiplex Cytotoxicity Assay +Caspase-Glo® 3/7 Assay 检测。毒性增加，凋亡增加，细胞活力降低，提示细胞凋亡。

参考文献举例

- MicroRNA-148a reduces tumorigenesis and increases TRAIL-induced apoptosis in NSCLC. PNAS, Jul 2015; 112:8650 - 8655.
- Long-circulating siRNA nanoparticles for validating Prohibitin1-targeted non-small cell lung cancer treatment. PNAS, Jun 2015; 112: 7779 - 7784.
- Bioluminescent, Nonlytic, Real-Time Cell Viability Assay and Use in Inhibitor Screening. Assay Drug Dev. Technol. 2015 13, 456 - 65.

订购产品

产品	规格	目录号
Caspase-Glo® 3/7 Assay	2.5ml	G8090
	10ml	G8091
	100ml	G8092
	10X10ml	G8093

» Caspase-Glo® 8 Assay

检测 caspase-8 活化或抑制。

- 在 30 分钟 -1 小时内达到最大灵敏度。
- 含有 LETD 序列的发光底物对 caspase-8 有选择性。
- 可检测细胞或纯酶，均具有卓越的 Z' 值。
- 产品包含一瓶单独的蛋白酶抑制剂 MG-132，可用于减少细胞分析中的背景。

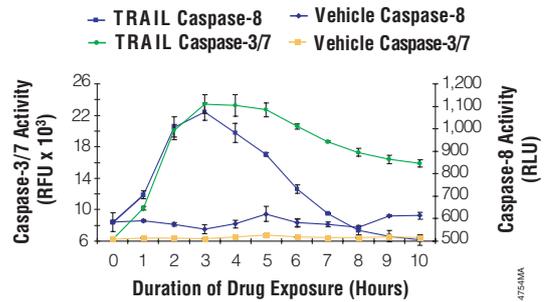
» Caspase-Glo® 9 Assay

Caspase-9 是哺乳动物细胞内在凋亡途径中的关键启动因子。Caspase-Glo® 9 Assay 可检测细胞或纯酶的 caspase-9 活化。

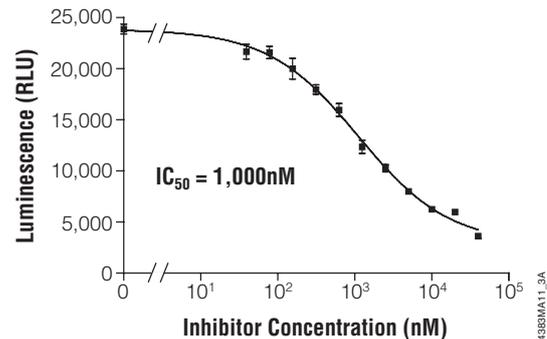
- 在 30 分钟 -1 小时内达到最大灵敏度。
- 含有 LEHD 序列的发光底物对 caspase-9 有选择性。
- 可检测细胞或纯酶，均具有卓越的 Z' 值。
- 产品包含一瓶单独的蛋白酶抑制剂 MG-132，可用于减少细胞分析中的背景。
- 操作简单，加样 - 混合 - 读数。

» 订购产品

产品	规格	目录号
Caspase-Glo® 8 Assay	2.5ml	G8200
	10ml	G8201
	100ml	G8202
Caspase-Glo® 9 Assay	2.5ml	G8210
	10ml	G8211
	100ml	G8212



上图：发光 caspase glo® 8 和 Apo One® caspase-3/7 叠加分析。caspase-8 和 caspase-3/7 活性的时间依赖性得到证实。



上图：通过以 125u/ml 的纯化 caspase-9 与两倍系列稀释的抑制剂 Ac-LEHD-CHO 共孵育，测定抑制剂 IC₅₀ 值。

荧光法 Caspase 3/7 检测——快速均质细胞水平检测

Apo-One® Homogenous Caspase-3/7 Assay

快速、灵敏地测定具有活性的 Caspase-3 和 -7 的均质荧光法检测试剂盒。试剂盒包括一种通用的 Caspase-3/7 荧光前体底物以及经优化的细胞裂解 / 酶活力检测缓冲液。

产品优势

- **更快得到结果:** 简单的“加样 - 混合 - 测量”模式以及高灵敏度, 消除了繁琐的样品制备和长时间的孵育步骤。
- **使用更少的酶或更少的细胞:** 优化后的 Caspase-3/7 活性缓冲液和 R110 标记的底物联合作用, 使反应灵敏度大大高于现存的荧光分析 Caspase 检测试剂盒。
- **适用于各种样品及高通量需求:** 该试剂盒可以适用于多种规格的分析 (从小试管到 384 孔板)。样品既可以是纯化的酶制剂, 也可以是细胞提取物、贴壁细胞、悬浮细胞或原代细胞。
- **兼容多重分析:** 可与其他 Promega 细胞学分析产品 (CellTiter-Blue® Assay, Caspase-Glo® 8 或 9 Assays) 一起使用进行叠加检测。

参考文献举例

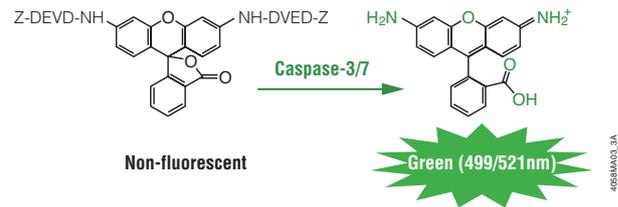
- Enrichment of the β -catenin-TCF complex at the S and G2 phases ensures cell survival and cell cycle progression. J.Cell Sci., Nov 2014; 127: 4833 - 4845.
- Nanolipolee-007, a Novel Nanoparticle-Based Drug Containing Leelamine for the Treatment of Melanoma. Mol.Cancer Ther., Oct 2014; 13: 2328 - 2340.
- Ceramide synthase 4 and de novo production of ceramides with specific N-acyl chain lengths are involved in glucolipototoxicity-induced apoptosis of INS-1 β -cells.
- Biochem. J., Aug 2011; 438: 177 - 189.

订购产品

产品	规格	目录号
Apo-ONE® Homogeneous Caspase-3/7 Assay	1ml	G7792
	10ml	G7790
	100ml	G7791

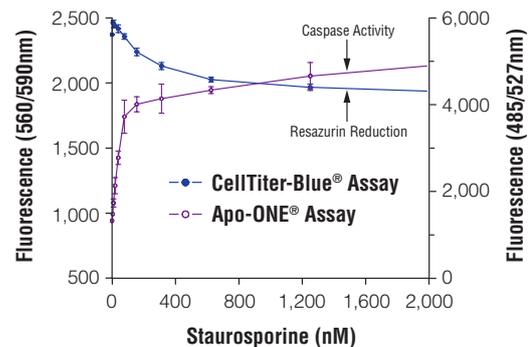
检测原理

Caspase-3/7 切割底物后, 罗丹明 110 在 498nm 处被激发即可产生荧光。荧光的最大发射波长为 521nm。荧光产物产生的量即代表样品中活性 Caspase-3/7 的含量。



检测类型	荧光法 (499 Ex/521 Em)
检测标志物	Caspase3 和 7
应用	凋亡研究, 抑制剂筛选, 兼容多重检测
样品类型	细胞系, 原代细胞, 酶学反应
检测步骤	一步法, 均质检测
操作时间	1-18 小时
灵敏度	~600 个凋亡细胞 (96 孔板)
性能优异	Z' 值及信噪比高

可进行多重检测, 在同一样本孔可检测两个数据



上图: 在同一样本孔可检测细胞活力和凋亡数据。Staurosporine 处理 Jurkat 细胞后, 加入 CellTiter-Blue® 试剂 (5 小时) 检测细胞活力。随后加入 Apo-One® Assay 试剂 (1 小时) 检测 Caspase 活性

荧光原位检测凋亡细胞—直观、准确

CaspACE™ FITC-VAD-FMK In Situ Marker

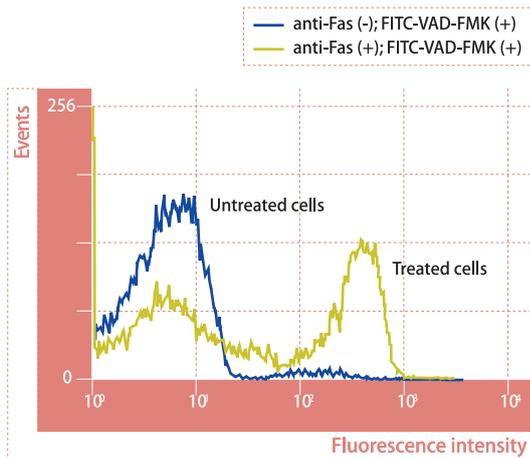
CaspACE™ FITC-VAD-FMK (原位标记物) 是一种泛 caspase 抑制剂 Z-VAD-FMK(carbobenzoxyvalyl-alanyl-aspartyl-[O-methyl]-fluoromethylketone) 的荧光类似物。异硫氰酸荧光素 (FITC) 基团取代了 N- 端的苄酯基 (Z), 从而成为凋亡的荧光标记物。这种结构使该抑制剂可进入细胞, 并与活性 caspases 发生不可逆结合。仅需加入单一试剂, 即可进行 caspase 酶的原位检测。

产品优势

- **操作简单:** 加入 FITC-VAD-FMK, 孵育, 洗涤, 然后观测荧光。
- **可使用多种检测方法:** 可使用荧光显微镜、流式细胞计数检测细胞凋亡, 也可结合其他的免疫标志物检测细胞总数或细胞群体内发生的凋亡频率; 可用于高通量分析。
- **更快得到结果:** 快速, 将单一试剂加入培养细胞; 无需制备细胞提取物或长时间孵育步骤。用于细胞凋亡初步筛选。
- **结果可靠:** 该肽段为人工合成的, 可确保不同批次的检测结果稳定。不像 Annexin V, 在不同批次间变化很大。
- **使用活细胞:** 该产品可轻松地进出细胞, 并可 " 锚定 " 在凋亡细胞内部。

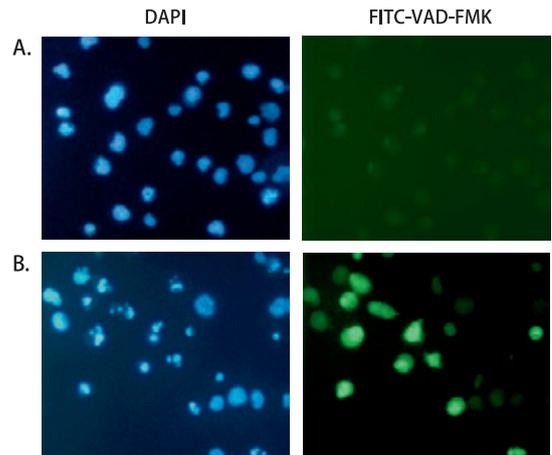
检测类型	荧光法 (499 Ex/521 Em)
检测标志物	Caspase
应用	凋亡研究, 可与抗体共标记检测
样品类型	细胞系, 原代细胞
检测步骤	直接加入培养基
操作时间	0.5-1 小时
灵敏度	~4000 个凋亡细胞

流式细胞术分析凋亡 Jurkat 细胞



上图: Jurkat 细胞经 anti-Fas mAb 处理 4 小时以诱导细胞凋亡, 随后用 CaspACE™ FITC-VAD-FMK In Situ Marker 染色 (终浓度 10 μ M)。流式细胞仪检测荧光信号。

荧光显微镜分析凋亡 Jurkat 细胞



上图: 将以上经处理和染色的 Jurkat 细胞用荧光显微镜观察。A. 未经处理的细胞; B. anti-Fas 处理的细胞; DAPI 染细胞核可以再次确认 FITC-VAD-FMK- 标记的凋亡细胞出现染色质浓缩和细胞核碎片化的特征。

订购产品

产品	规格	目录号
CaspACE FITC-VAD-FMK In Situ Marker	50 μ l	G7461
	125 μ l	G7462

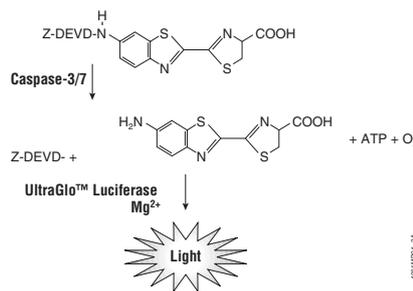
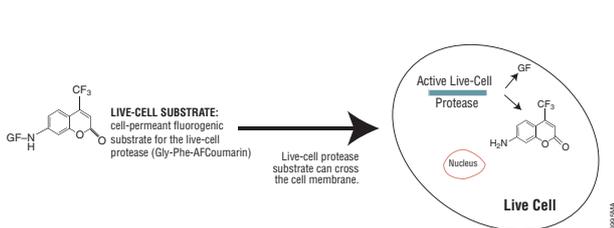
双重检测—细胞活力 + 细胞凋亡

ApoLive-Glo™ Multiplex Assay

ApoLive-Glo™ Multiplex Assay (ApoLive-Glo™ 多重检测试剂盒) 在一个检测孔中, 既能检测以细胞活力为标志的细胞毒作用, 又能检测以 Caspase 活化作用为标志的细胞凋亡, 从而确定细胞死亡的机理。

首先利用能够产生荧光的、可渗透进入细胞的多肽底物 (甘氨酸 - 苯丙氨酸 - 氨基荧光香豆素, GF-AFC) 检测活细胞独有的活细胞蛋白酶以反应细胞活力或毒性; 然后再用 Caspase-Glo® 3/7 试剂, 检测细胞凋亡情况。

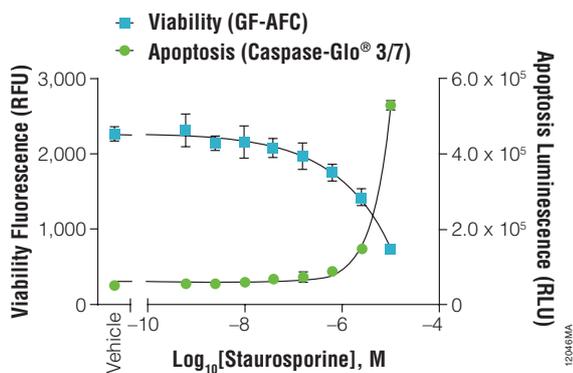
ApoLive-Glo™ Multiplex Assay 原理: A. 细胞活力采用细胞透过性底物检测细胞内的活细胞蛋白酶, 检测荧光信号 (400Ex/505Em)。B. Caspase-3/7 剪切底物, 释放氨基荧光素, 在荧光素酶的催化下发光。



产品优势

- 在同一个样品孔中同时检测活力和凋亡: 准确确定细胞死亡机制, 耗时少、样品消耗少。
- 易于操作: 该检测只需简单地按“加样 - 混合 - 检测”的顺序进行。
- 以细胞活力为对照, 对 Caspase 数据进行归一化处理。
- 应用灵活, 便于自动化: 适于 96 和 384 孔板的自动化检测。

检测类型	荧光法 (AFC 400Ex/505Em), 发光法
检测标志物	活蛋白酶活性 + Caspase 3/7
应用	细胞活力 + 凋亡研究
样品类型	细胞系, 贴壁 + 悬浮
检测步骤	两步法, 均质检测
操作时间	1-3 小时
灵敏度	~40 个活细胞, 100 凋亡细胞 (96 孔板)



上图: ApoLive-Glo™ Multiplex Assay 检测细胞凋亡, GloMax® Discover System 检测信号。Staurosporine 处理 HEK293 细胞 6 小时, 细胞活力随药量增加而降低, Caspase 活性随药量增加而增加, 符合预期的凋亡结果。

参考文献举例

- Potentiation of cytotoxic chemotherapy by growth hormone-releasing hormone agonists. PNAS, Jan 2014; 111: 781-786.
- miR-9 is an essential oncogenic microRNA specifically overexpressed in mixed lineage leukemia-rearranged leukemia. PNAS, Jul 2013; 110: 11511 - 11516.
- Selective mRNA translation during eIF2 phosphorylation induces expression of IBTK α . Mol. Biol. Cell, May 2014; 25: 1686 - 1697.

订购产品

产品	规格	目录号
ApoLive-Glo™ Multiplex Assay	10ml	G6410
	5X10ml	G6411

三重检测—细胞活力 + 细胞毒性 + 细胞凋亡

ApoTox-Glo™ Triplex Assay

ApoTox-Glo™ Triplex Assay 结合了三种检测试剂，能够轻松实现对同一孔细胞的活力、毒性和凋亡事件的评估。

检测原理

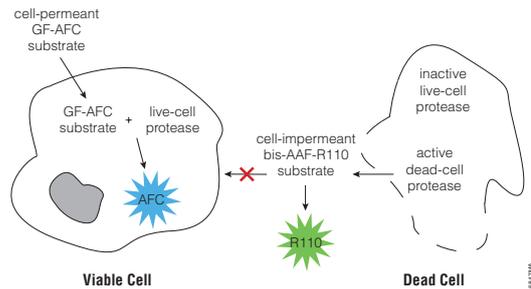
细胞活力和细胞毒性的检测：实验时加入含有两种肽底物的试剂，活细胞蛋白酶活性只能从完整的活细胞中检测到，可渗透进入细胞的荧光多肽底物 (GF-AFC) 进入胞膜完整的细胞后，被剪切而生成荧光信号，信号强度与活细胞数目成正比。当细胞膜完整性缺失，活细胞相关的蛋白酶即失活。而同时加入的第二种不能穿透细胞膜的荧光肽底物 (bis-AAF-R110) 可以检测死细胞蛋白酶的活性，死细胞失去了细胞膜完整性，将死细胞蛋白酶从细胞中释放出来与底物反应产生荧光。

凋亡检测：接着加入含有针对 caspase-3/7 的发光 DEVD-肽底物以及 Ultra-Glo™ 重组热稳定萤光素酶的试剂检测凋亡。底物被 caspase-3/7 剪切后释放出萤光素 (萤光素酶底物)，能够在萤光素酶反应中产生生物发光，光信号与凋亡的关键指标 caspase-3/7 的活性正相关。

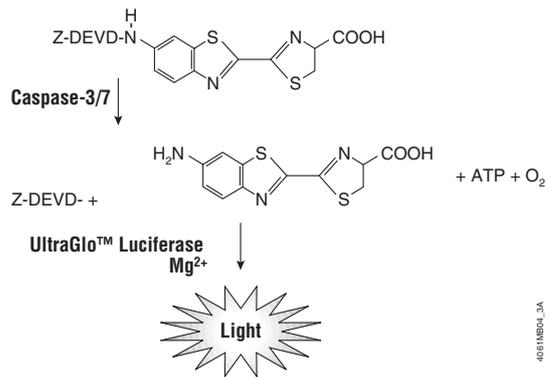
产品优势

- **在同一个样品孔中检测活力、细胞毒性和凋亡：**在同一个样品孔中确定细胞死亡的机理，减少了细胞培养成本和劳动力成本。
- **自带对照参数，用于数据的归一化处理：**活细胞数 / 死细胞数的比率与细胞总数无关，可以用于归一化数据。归一化处理使得在孔与孔、板与板、或者不同时间的检测结果更具有可比性。
- **灵活的检测通量：**每一种检测组分的体积都可调整大小以满足通量要求，可在 96 孔和 384 孔板上进行自动化操作。
- **使用简单：**检测过程只需依次进行“加样 - 混合 - 检测”。

第 1 步：细胞活力和细胞毒性的检测

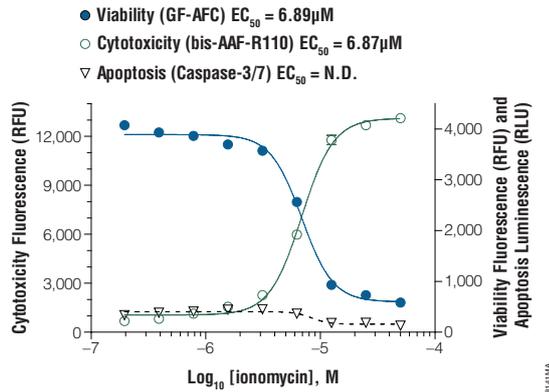


第 2 步：细胞凋亡的检测



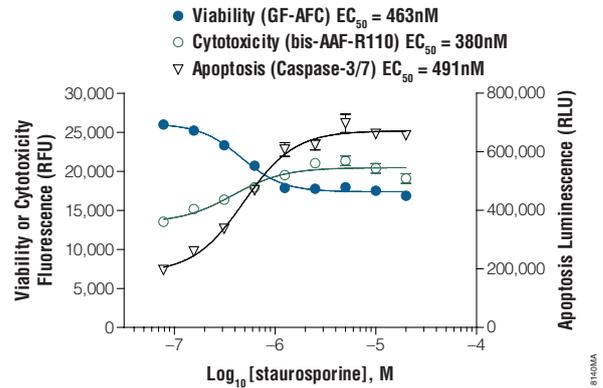
检测类型	荧光法 (AFC 400Ex/505Em, R110 485Ex/520Em), 发光法
检测标志物	活蛋白酶活性 + 死细胞蛋白酶 + Caspase 3/7
应用	细胞活力 + 细胞毒性 + 凋亡研究
样品类型	细胞系, 贴壁 + 悬浮
检测步骤	两步法, 均质检测
操作时间	1-3 小时
灵敏度	~40 个活细胞, 10 个死细胞, 100 凋亡细胞 (96 孔板)

检测细胞坏死



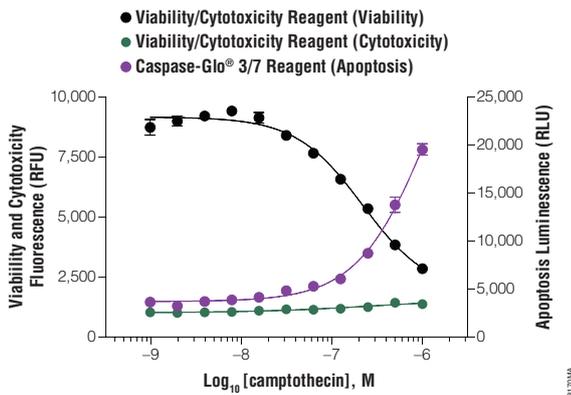
上图: Ionomycin 处理 Jurkat 细胞 6 小时的量效曲线, 结果显示细胞活力降低, 毒性增加, 无 caspase-3/7 活性增加, 符合原发细胞坏死特征。

检测细胞凋亡



上图: Staurosporine 处理 Jurkat 细胞 6 小时的量效曲线, 结果显示细胞活力降低, 毒性增加, caspase-3/7 活性增加, 提示细胞凋亡。

检测细胞生长阻滞



上图: Camptothecin 处理 Jurkat 细胞 6 小时的量效曲线, 结果显示细胞活力随药量增加而降低, 毒性没有变化, 而 caspase-3/7 活性增加, 与预期细胞周期停滞, 早期凋亡结果一致。

参考文献举例

- Bovine lactoferrin and bovine lactoferricin are internalized by colon cancer cells and exhibit elevated apoptosis. *FASEBJ*, Apr 2012; 26: 366.8.
- c-Jun N-Terminal Kinase 1/c-Jun Activation of the p53/MicroRNA 34a/Sirtuin 1 Pathway Contributes to Apoptosis Induced by Deoxycholic Acid in Rat Liver. *Mol. Cell.Biol.*, Mar 2014; 34: 1100 - 1120.
- Role of Caspases in Cytokine-Induced Barrier Breakdown in Human Brain Endothelial Cells. *J. Immunol.*, Sep 2012;189: 3130 - 3139.

订购产品

产品	规格	目录号
ApoTox-Glo™ Triplex Assay	10ml	G6320
	5X10ml	G6321

传统 TUNEL 检测法 - 灵活选择荧光法或显色法

» DeadEnd™ Fluorometric TUNEL

DeadEnd™ Fluorometric TUNEL System 是检测核 DNA 断裂，后者是很多细胞发生凋亡时的重要生物学信号。该检测系统无放射性，并且可以提供简单、快速、准确的方法在单细胞水平或细胞悬浮液中原位检测凋亡细胞。

检测原理：TUNEL(TdT mediated dUTP Nick-End Labeling) 即末端脱氧核苷转移酶 (TdT) 介导的对 DNA 断裂末端的 dUTP 标记。在末端脱氧核苷转移酶 (TdT) 的作用下，催化荧光素-12-dUTP 掺入到断裂 DNA 的 3'-OH 末端，形成一个多聚尾，通过检测这种标记物来反映 DNA 断裂情况，检测凋亡细胞。荧光素-12-dUTP 标记的 DNA 可以直接由荧光显微镜观测到或者由流式细胞计数检测。

» 参考文献举例

- A long noncoding RNA regulates photoperiod-sensitive male sterility, an essential component of hybrid rice 2012 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109, 2654–9.
- Eukaryotic translation initiation factor 5A is involved in pathogen-induced cell death and development of disease. 2008 Plant Physiol. 148, 479–489.
- Impaired generation of mature neurons by neural stem cells from hypomorphic Sox2 mutants 2008 Development 135, 541–557.

» 订购产品

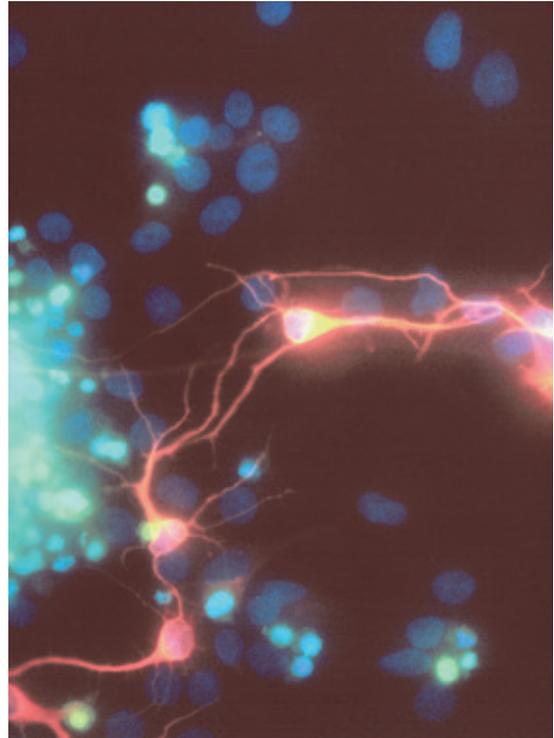
产品	规格	目录号
DeadEnd™ Fluorometric TUNEL System	60 reactions	G3250

» DeadEnd™ Colorimetric TUNEL

DeadEnd™ Colorimetric TUNEL 是使用系统改良的断裂 DNA 末端标记方法检测凋亡细胞。使用末端脱氧核苷转移酶 (TdT) 将生物素标记的核苷酸掺入到 DNA 的 3'-OH 末端，然后，辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素 (Streptavidin HRP) 结合在上述生物素标记的核苷酸上，可以通过过氧化物酶的底物稳定的显色剂氨基联苯胺 (DAB) 检测到。使用这种操作流程，凋亡细胞的核被染成深棕色。

» 订购产品

产品	规格	目录号
DeadEnd™ Colorimetric TUNEL System	40 reactions	G7130
	20 reactions	G7360



上图：神经祖细胞从球形的凋亡细胞团中迁移出来。浓集的细胞核（绿色）含有断裂的 DNA，经 DeadEnd™ Fluorometric TUNEL 系统显示出来，与未发生凋亡的细胞核形成对照，后者较大，被 DAPI 染成蓝色。同时，采用 β III Tubulin (Cat.#G7121) 的一抗和 Cy³ 结合的二抗对细胞进行免疫细胞化学方法处理，未成熟的神经元（红色）被清楚地标记为红色。

2272CA06_8A

www.promega.com/products/cell-health-assays/apoptosis-assays/



关注 Promega 微信公众号



价格查询



中文说明书



实验工具



技术资料



市场活动



经销商信息

普洛麦格 (北京) 生物技术有限公司

Promega (Beijing) Biotech Co., Ltd

地址: 北京市东城区北三环东路 36 号环球贸易中心 B 座 907-909

电话: 010-58256268

网址: www.promega.com

技术支持电话: 800 810 8133(座机拨打), 400 810 8133(手机拨打)

技术支持邮箱: chinatechserv@promega.com

印刷时间: 2020.4