

中文说明书

DeadEnd™ Colorimetric TUNEL System

适用产品目录号：G7130 和 G7360



DeadEnd™ Colorimetric TUNEL System

所有技术文献的英文原版均可在 [www.promega.com/ protocols](http://www.promega.com/protocols) 获得。请访问该网址以确定您使用的说明书是否为最新版本。如果您在使用该试剂盒时有任何问题，请与 Promega 北京技术服务部联系。

电子邮箱: chinatechserv@promega.com

1. 产品描述	2
2. 产品组分和储存条件	4
3. 检测步骤	5
3. A. 用户需提供的材料和试剂制备	5
3. B. 在组织切片上进行凋亡分析的步骤	7
3. C. 在培养细胞中检测凋亡的步骤	9
3. D. 阳性对照 DNA 酶处理步骤 (可选)	10
3. E. 茴香霉素诱导的 HL-60 细胞凋亡步骤	10
4. 疑难解答	11
5. 缓冲液和溶液的成分	12
6. 相关产品	13
7. 参考文献	14
8. 内容变更总结	15

1. 产品描述

DeadEnd™ Colorimetric TUNEL System 提供末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)介导的断裂的核 DNA 缺口末端标记用试剂。该系统可使用光学显微镜在单细胞水平直接原位检测组织切片和培养细胞中的凋亡细胞。

大部分高等真核生物的细胞具有通过激活内在的细胞自杀程序(称为程序性细胞死亡或凋亡)而自我破坏的能力(1,2)。在:细胞凋亡发育过程、维持体内稳态以及几种疾病中都发挥重要作用(2-5)。其形态特征包括膜起泡、核和胞质收缩以及染色质凝聚。凋亡的细胞经常会分割成膜结合的凋亡小体,这些凋亡小体很容易被巨噬细胞或邻近细胞吞噬并消化,但不会产生炎症反应。这与被称为坏死的细胞死亡类型相反,坏死的特点是细胞肿胀、染色质絮凝、膜的完整性丧失、细胞裂解和发生局部炎症反应。

在凋亡的细胞核中观察到的形态变化部分归因于通过内源性核酸内切酶的作用而产生的 DNA 切割片段(6,7)。通常,凋亡细胞的 DNA 被断裂成 180-200bp 的多聚体片段,在琼脂糖凝胶上很容易观察到梯状条带。已在下面几种样品中清楚地标记了凋亡细胞:轴突横切术诱导的外侧膝状核(LGN)中神经元死亡后的大鼠大脑的振动切片(Vibratome sections)中(8-10);抗 Fas 抗体诱导的 Jurkat 细胞(9-11);以及茴香霉素处理后的 HL-60 细胞(12)。DeadEnd™ Colorimetric TUNEL System 可在原位标记断裂的 DNA 片段,并已在这些系统中进行了测试。

本技术手册包含检测组织切片(参见 3.B)和茴香霉素诱导的 HL-60 细胞(参见 3.C-E)中凋亡细胞的操作步骤。

检测原理

DeadEnd™ Colorimetric TUNEL System 使用改良的 TUNEL 方法对凋亡细胞的断裂 DNA 片段进行末端标记。利用重组末端脱氧核苷酸转移酶(rTdT 酶)将生物素化核苷酸掺入 DNA 的 3'-羟基(3'-OH)末端。然后将辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素(Streptavidin HRP)结合到这些生物素化核苷酸上,使用稳定的显色底物—二氨基联苯胺(DAB)对其进行检测。通过上述步骤,凋亡细胞核被染成深棕色,可用光学显微镜对其进行观察。使用培养的细胞进行检测的操作步骤如图 1 所示。

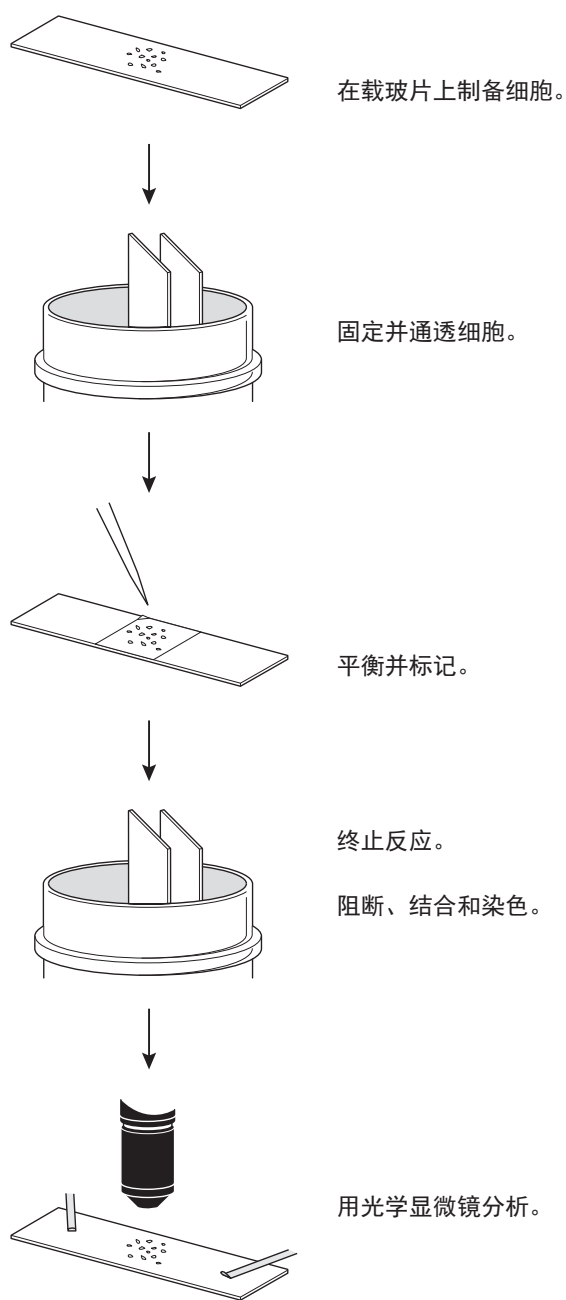


图 1. 使用 DeadEnd™ Colorimetric TUNEL System 检测培养的细胞概述

2. 产品组分和储存条件

产品	规格	目录号
DeadEnd™ Colorimetric TUNEL System	20 次反应	G7360

包括:

- 4.8 ml Equilibration Buffer
- 20μl Biotinylated Nucleotide Mix (2×20μl)
- 20μl Terminal Deoxynucleotidyl Transferase, Recombinant
- 20 ml SSC, 20X
- 10 mg Proteinase K
- 40μl Streptavidin HRP (0.5 mg/ml)
- 400μl DAB 10X Chromogen
- 3.6 ml DAB Substrate 1X Buffer
- 20 Plastic Coverslips (塑料盖玻片)

产品	规格	目录号
DeadEnd™ Colorimetric TUNEL System	40 次反应	G7130

包括:

- 9.6 ml Equilibration Buffer
- 40μl Biotinylated Nucleotide Mix (2×20μl)
- 2×20μl Terminal Deoxynucleotidyl Transferase, Recombinant
- 70 ml SSC, 20X
- 10 mg Proteinase K
- 40μl Streptavidin HRP (0.5 mg/ml)
- 400μl DAB 10X Chromogen
- 3.6 ml DAB Substrate 1X Buffer
- 40 Plastic Coverslips (2×20)

储存条件: 将 Equilibration Buffer (平衡缓冲液)、rTdT 酶、Biotinylated Nucleotide Mix (生物素化核苷酸混合物) 和 Proteinase K (蛋白酶 K) 储存于 -20℃, 将 Streptavidin HRP (辣根过氧化物酶标记链霉亲和素)、DAB 10X Chromogen (DAB 10X 色原) 和 DAB Substrate 1X Buffer (DAB 底物 1X 缓冲液) 储存于 4℃, 并将 20X SSC 和 Plastic Coverslips 储存于室温。



该系统中不同组分的储存条件不同。

本系统提供的 Proteinase K 在使用前需用 1 ml 的蛋白酶 K 缓冲液 (参见 5) 溶解。所得到的蛋白酶 K 溶液浓度为 10 mg/ml。将配好的蛋白酶 K 溶液分装成小份储存于 -20℃, 在该温度下酶的稳定期至少为 6 个月。

注意事项: Equilibration Buffer 含有二甲胍酸钾 (potassium cacodylate, 二甲次胍酸)。避免接触皮肤和眼睛。使用该试剂时, 请戴好手套和防护眼镜。

DAB 是可疑致癌物。使用该试剂时, 请戴手套和防护眼镜。

3. 检测步骤

3.A. 用户需提供的材料和试剂制备

使用 DeadEnd™ Colorimetric TUNEL System 时, 请阅读下述推荐材料清单。
溶液成分参见第 5 节。

- PBS (磷酸盐缓冲液)
- 0.3% 的可阻断内源性过氧化物酶的过氧化氢
- 固定剂 (例如 10% 的缓冲福尔马林、4% 的多聚甲醛、4% 的无甲醇甲醛)
- 封片剂

如果样品是培养细胞, 还需准备:

- 多聚赖氨酸 (poly-L-lysine)
- 配制于 PBS 中的 0.2% Triton®X-100 溶液
- DNA 酶 I (DNase I) (例如, RQ1 RNase-Free DNase, 目录号: M6101)
- DNA 酶 (DNase) 缓冲液

如果样品是石蜡包埋的组织切片, 还需准备:

- 二甲苯或二甲苯替代物【例如, Hemo-De® Clearing Agent (Fisher 目录号: 15-182-507A)】
- 用去离子水稀释的乙醇 (100%、95%、85%、70% 和 50%)
- 0.85% NaCl 溶液
- 蛋白酶 K 缓冲液
- DNA 酶 I (DNase I) (例如, RQ1 RNase-Free DNase, 目录号: M6101)
- DNA 酶 (DNase) 缓冲液

如果样品是组织切片和培养细胞，还需准备：

- 多聚赖氨酸包被或硅烷化处理的显微镜载玻片【例如，Poly-Prep® Slides（Sigma 目录号：P 0425）、Superfrost® Plus Glass Slides（Fisher 目录号：12-550-15）或其他适当预处理的载玻片】
- 染色缸（科普林缸，可选的 DNA 酶 I 阳性对照载玻片需要单独的染色缸）
- 镊子
- 37℃培养箱
- 微量移液器
- 玻璃盖玻片
- 透明指甲油或橡胶胶水
- 显微镜

试剂制备

1. 在 PBS 中按 1：500 的比例稀释浓度为 10 mg/ml 的 Proteinase K 储备液（配制方法参见第 2 部分），从而制备浓度为 20 µg/ml 的 Proteinase K 溶液。
2. 用去离子水按 1：10 的比例稀释 20X SSC。

注：稀释前，确保 20X SSC 的所有盐分均溶解于溶液中。

3.B. 在组织切片上进行凋亡分析的步骤

该步骤适用于通过各种方式制备的组织切片，包括石蜡包埋切片、冰冻切片和振动切片。**对于冰冻切片和振动切片，请从第 4 步开始。**

检测对照：在阳性对照中，用 DNA 酶处理样品（第 11 步）。在阴性对照中，制备不含 TdT 酶的反应混合液（第 13 步）。

1. 对于石蜡包埋切片，将载玻片浸入装有新鲜二甲苯的染色缸中，在室温下放置 5 分钟，对组织切片（附着在显微镜载玻片上）脱蜡。重复一次，共脱蜡两次。
2. 将载玻片浸入装有 100% 乙醇的染色缸中，在室温下放置 5 分钟，进行洗涤。
3. 重复在 100% 乙醇中洗涤 3 分钟，然后依次将载玻片浸入梯度乙醇洗涤液（95%、85%、70% 和 50%），在室温下每步放置 3 分钟，使样品重新水化。
4. 将载玻片浸入 0.85% NaCl 中，在室温下放置 5 分钟，进行洗涤。
5. 将载玻片浸入 PBS 中，在室温下放置 5 分钟，进行洗涤。
6. 将载玻片浸入配制于 PBS 中的 4% 的多聚甲醛溶液或 10% 的福尔马林缓冲液中，在室温下放置 15 分钟，使组织切片固定。
7. 将载玻片浸入 PBS 中，在室温下放置 5 分钟。重复一次，共洗涤两次。
8. 去除组织上的液体，并将载玻片放在平坦的表面上。向每个载玻片中加入 100 μ l 浓度为 20 μ g/ml 的 Proteinase K 溶液（关于试剂制备，请参见 3.A）以覆盖组织切片，并在室温下孵育 10–30 分钟。

! Proteinase K 有助于组织通透，但长时间孵育可能会导致切片从载玻片上脱落。为了得到最佳的结果，需要优化孵育时间。对于较薄的组织切片（例如，5 μ m–10 μ m 石蜡切片），请选择较短的孵育时间；而对于较厚的切片（例如，50 μ m 的振动切片），请选择较长的孵育时间。

9. 将载玻片浸入装有 PBS 的染色缸中，在室温下放置 5 分钟，进行洗涤。
10. 洗涤后，将载玻片浸入配制于 PBS 中的 4% 的多聚甲醛或 10% 的缓冲福尔马林中，在室温下放置 5 分钟，使组织切片重新固定。
11. 将载玻片浸入 PBS 中，在室温下放置 5 分钟，进行洗涤。重复一次，共洗涤两次。

注：如果需要（第 11 步），用 DNA 酶 I 处理样本引起 DNA 断裂，制备阳性对照。有关 DNA 酶处理的操作步骤，请参见第 3.D 节。

12. 轻叩载玻片以清除多余的液体。用 100 μ l Equilibration Buffer 覆盖细胞。在室温下平衡 5–10 分钟。
13. 在平衡细胞的同时，在冰上解冻 Biotinylated Nucleotide Mix，并为所有实验组和对照反应准备足够量的 rTdT 反应混合液。始终放置在冰上。每一个载玻片上的切片，需要 100 μ l 反应混合液才能充分覆盖。有关 rTdT 反应混合液的制备详情，请参见表 1。

表 1. rTdT 反应混合液的制备

缓冲液组分	每 100μl 标准反应液中 各组分的体积	反应次数 (实验反应 + 可选的阳性对照)	组分体积
Equilibration Buffer	98μl	×	_____μl
Biotinylated Nucleotide Mix	1μl	×	_____μl
rTdT Enzyme	1μl	×	_____μl

阴性对照：将 98μl Equilibration Buffer、1μl Biotinylated Nucleotide Mix 和 1μl 高压灭菌去离子水混合，制备不含 rTdT 酶的对照孵育缓冲液。按照第 14–24 步进行处理。

14. 用纸巾吸干平衡区域周围的水，然后将 100μl rTdT 反应混合液加到载玻片上的切片中。请勿使切片变干。
15. 用塑料盖玻片盖住切片，以确保试剂均匀分布。将载玻片放置在湿盒中于 37℃ 孵育 60 分钟，进行末端标记反应。
16. 取下塑料盖玻片，将载玻片浸入装有 2X SSC 的染色缸中（关于试剂制备，请参见 3.A），在室温下放置 15 分钟，以终止反应。
17. 将载玻片浸入新鲜的 PBS 中，在室温下放置 5 分钟，进行洗涤。重复进行两次洗涤，以去除未结合的生物素化核苷酸。
18. 将载玻片浸入配制于 PBS 中的 0.3% 过氧化氢中，在室温下放置 3-5 分钟，以阻断内源性过氧化物酶。
19. 将载玻片浸入 PBS 中，在室温下放置 5 分钟，进行洗涤。重复两次，共洗涤三次。
20. 在 PBS 中按 1: 500 的比例稀释 Streptavidin HRP 溶液。向每个载玻片加入 100μl 该溶液，并在室温下孵育 30 分钟。
21. 将载玻片浸入 PBS 中，在室温下放置 5 分钟，进行洗涤。重复两次，共洗涤三次。
22. 在即将使用前制备 DAB 溶液。将 100μl DAB 10X Chromogen 加到 900μl DAB Substrate 1X Buffer 中。
向每个载玻片中加入 100μl DAB 溶液，使其显色直至出现浅棕色背景（通常大约需要 10 分钟，但该时间可能需要优化）。请勿使背景变得太暗。
- !** 将 DAB 溶液避光放置，并在 30 分钟内使用。
23. 用去离子水冲洗几次。
24. 用水溶性或永久性封片剂【例如，100% 甘油或 Permount® Mounting Medium（Fisher 目录号：SP15-100）】进行封片。
使用水溶性封固剂时，可以用指甲油密封盖玻片的边缘。使用光学显微镜观察染色情况。

3.C. 在培养细胞中检测凋亡的步骤

为所有实验样品和对照反应组准备足够量的多聚赖氨酸包被载玻片。

多聚赖氨酸包被载玻片的制备

将多聚赖氨酸水溶液（Sigma 目录号：P 8920，在水中按 1：10 的比例稀释）吸移至每个预清洁过的载玻片表面上。在整个的细胞固定区域涂布一层薄薄的多聚赖氨酸溶液。载玻片干燥后，立即用去离子水冲洗，然后将包被的载玻片风干 30–60 分钟。使用前，多聚赖氨酸包被载玻片可在 4℃ 下保存 7 天。在多聚赖氨酸包被载玻片上孵育贴壁细胞时，使用不含防腐剂的聚赖氨酸（Sigma 目录号：P 9155）。

载玻片上细胞的制备

离心对照或凋亡诱导的细胞，用 PBS 洗涤，重悬，然后将其添加至多聚赖氨酸包被载玻片上。在固定之前，让细胞在超净台中风干约 15 分钟。或者，在 Lab-Tek® 载玻片小室（Chamber Slide）上培养贴壁细胞。经过对照或实验处理诱导凋亡后，用 PBS 冲洗载玻片两遍，然后直接进行下述凋亡检测试验。

凋亡检测

1. 将载玻片浸入装有 10% 的福尔马林缓冲液、4% 的多聚甲醛溶液或 10% 的福尔马林 PBS 缓冲溶液的染色缸中，在室温下放置 25 分钟，使细胞固定。
2. 将载玻片浸入新鲜的 PBS 中，在室温下放置 5 分钟，进行洗涤。重复一次，共洗涤两次。
注：完成第 2 步后，可将载玻片储存于的 PBS 中 4℃ 保存或 70% 乙醇中 -20℃ 保存。
3. 将载玻片浸入含有 0.2% Triton® X-100 PBS 溶液中，在室温下放置 5 分钟，使细胞通透。
4. 将载玻片浸入新鲜的 PBS 中，在室温下放置 5 分钟，进行洗涤。重复一次，共洗涤两次。
5. 按照第 3.B 节中第 12–24 步，进行操作。此时可以按照第 3.D 节所述制备一个阳性对照载玻片。

3.D. 阳性对照 DNA 酶处理步骤 (可选)

每个实验中都可以包含用于检测 DNA 断裂的阳性对照。对于培养细胞，首先按照第 3.C 节中所述的第 1–4 步操作，然后根据本节所述用 DNA 酶 I (本试剂盒中不提供) 处理细胞，从而制备阳性对照载玻片。

注：DNA 酶 I 处理固定细胞会导致染色体 DNA 断裂，使大量 DNA 的 3'-OH 末端暴露，然后可在该末端掺入生物素化核苷酸。下述操作步骤通常会导致大多数经处理的细胞出现过氧化物酶标记。

! 阳性对照载玻片应使用单独的染色缸。来自阳性对照载玻片上残余的 DNA 酶 I 活性可能会在实验组载玻片上引入高的背景。

1. 将 100 μ l DNA 酶 I 缓冲液加入到固定的细胞上 (参见 5)，并在室温下孵育 5 分钟。
2. 轻轻叩掉液体，加入 100 μ l 含 5–10 unit/ml DNA 酶 I 的缓冲液 (目录号: M6101, RQ1 DNase; 当使用其它 DNases 时，可能需要优化)，室温孵育 10 分钟。
3. 轻叩载玻片去掉多余的液体，然后在阳性对照专用染色缸中用去离子水彻底洗涤载玻片 3–4 次。
4. 将载玻片浸入 PBS 中，在室温下放置 5 分钟，进行洗涤。
5. 按第 3.B 节第 12–24 步所述，使用单独的染色缸处理阳性对照。

3.E. 茴香霉素 (Anisomycin) 诱导的 HL-60 细胞凋亡的检测步骤

用蛋白质合成抑制剂茴香霉素处理可诱导人早幼粒细胞系 HL-60 凋亡 (10)。

1. 于 37°C 湿润的 5% CO₂ 培养箱中使用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基孵育 HL-60 细胞。
2. 将细胞密度调至 5 $\times$ 10⁵ 个 /ml，并使用终浓度为 2 μ g/ml (溶解在 DMSO 中) 的茴香霉素处理，在 37°C 湿润的 5% CO₂ 培养箱中孵育 2 小时。阴性对照细胞用等体积的 DMSO 处理，并且在相同的条件下孵育。
3. 收集细胞并将其在 PBS 中重悬至 1.5 $\times$ 10⁶ 个 /ml，然后往多聚赖氨酸包被载玻片上涂覆薄薄的一层。按照第 3.C 节中第 1–5 步所述进行细胞凋亡的分析。

4. 疑难解答

如果您遇到的问题在此没有列出，请联系普洛麦格（北京）生物技术有限公司或当地经销商。联系信息见：www.promega.com。电子邮箱：chinatechserv@promega.com

问题	原因和参考建议
背景高(即, 非凋亡细胞呈现很强的染色)	生物素化核苷酸的非特异性掺入。请勿使细胞干掉。
	在第 3.B 节第 17 步, 可用含 0.1% Triton® X-100 和 5 mg/ml 牛血清白蛋白 (BSA) 的 PBS 洗涤载玻片三遍, 每次 5 分钟, 然后用 PBS 洗涤一遍, 以消除非特异性背景。
	在组织样本制备过程中 DNA 降解。确保立即固定或冷冻组织样本。
总背景高	样品在 DAB 溶液中孵育时间过长。缩短 DAB 显色时间。
	内源性过氧化物酶未被阻断。使用 0.3% 的过氧化氢并延长阻断时间。
几乎没有染色或染色不好	Triton® X-100 或 Proteinase K 的通透不充分。通过调整通透剂的孵育时间来优化通透步骤。
组织切片从载玻片上脱落	组织切片从载玻片上被酶消化下来。缩短 Proteinase K 孵育时间。

5. 缓冲液和溶液的成分

1X PBS (pH 7.4)

137 mM	NaCl
2.68 mM	KCl
1.47 mM	KH ₂ PO ₄
8.1 mM	Na ₂ HPO ₄

20X SSC

87.7 g	NaCl
44.1 g	sodium citrate (柠檬酸钠)

溶于 400 ml 去离子水中。用 10N NaOH 将 pH 值调至 7.2 后，加水定容至 500 ml。

2X SSC

使用前用去离子水按 1: 10 的比例稀释 20X SSC。

4% 多聚甲醛溶液

在通风橱中称取 4 g 多聚甲醛，加 PBS 至 100 ml。装于密闭容器中在 65°C 水浴加热溶解 2 小时。储存于 4°C 下，该溶液的稳定期至少为两周。

DNA 酶 I (DNase I) 缓冲液

40 mM	Tris-HCl (pH 7.9)
10 mM	NaCl
6 mM	MgCl ₂
10 mM	CaCl ₂

Equilibration Buffer

200 mM	potassium cacodylate (二甲胍酸钾, 25°C 时 pH 为 6.6)
25 mM	Tris-HCl (25°C 时 pH 为 6.6)
0.2 mM	DTT
0.25 mg/ml	BSA
2.5 mM	cobalt chloride (氯化钴)

蛋白酶 K 缓冲液

100 mM	Tris-HCl (pH 8.0)
50 mM	EDTA

6. 相关产品

产品	规格	目录号
RealTime-Glo™ Annexin V Apoptosis and Necrosis Assay	100 assays	JA1011
Caspase-Glo® 3/7 Assay	2.5 ml	G8090
	10 ml	G8091
Caspase-Glo® 8 Assay	2.5 ml	G8200
	10 ml	G8201
Caspase-Glo® 9 Assay	2.5 ml	G8210
	10 ml	G8211
Apo-ONE® Homogeneous Caspase-3/7 Assay	10 ml	G7790
DeadEnd™ Fluorometric TUNEL System	60 assays	G3250
CaspACE™ FITC-VAD-FMK In Situ Marker	50µl	G7461
	125µl	G7462
Caspase Inhibitor Z-VAD-FMK	50µl	G7231
		G7232
Caspase Inhibitor Ac-DEVD-CHO	100µl	G5961
Anti-ACTIVE® Caspase-3 pAb	50µl	G7481
Anti-PARP p85 Fragment pAb	50µl	G7341
CellTiter-Glo® 2.0 Assay	10 ml	G9241
CellTiter-Glo® 3D Cell Viability Assay	10 ml	G9681
CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay	10 ml	G7570
	10×10 ml	G7571
CellTiter-Fluor™ Cell Viability Assay	10 ml	G6080
CellTiter-Blue® Cell Viability Assay	20 ml	G8080
CellTiter 96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay	200 assays	G3582
CellTiter 96® Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay	1000 assays	G5421
CellTiter 96® Aqueous MTS Reagent Powder	250 mg	G1112
CellTiter 96® Non-Radioactive Cell Proliferation Assay	1000 assays	G4000
CellTox™ Green Cytotoxicity Assay	10 ml	G8741
LDH-Glo™ Cytotoxicity Assay	10 ml	J2380
CytoTox-ONE™ Homogeneous Membrane Integrity Assay	200–800 assays	G7890
CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity Assay	1000 assays	G1780
rhTNF-α	10 µg	G5241
RQ1 RNase-Free DNase	1000 u	M6101
Terminal Deoxynucleotidyl Transferase, Recombinant	300 u	M1871
Proteinase K (冻干品)	100 mg	V3021

仅供研究使用。不用于诊断程序。也提供其它规格的产品。

7. 参考文献

1. Ellis, R.E., Yuan, J.Y. and Horvitz, H.R. (1991) Mechanisms and functions of cell death. *Annu. Rev. Cell. Biol.* **7**, 663–98.
2. Steller, H. (1995) Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science* **267**, 1445–9.
3. Burek, M.J. and Oppenheim, R.W. (1996) Programmed cell death in the developing nervous system. *Brain Pathol.* **6**, 427–46.
4. Johnson, E.M. Jr., Deckwerth, T.L. and Deshmukh, M. (1996) Neuronal death in developmental models: Possible implications in neuropathology. *Brain Pathol.* **6**, 397–409.
5. Cohen, J.J. et al. (1992) Apoptosis and programmed cell death in immunity. *Annu. Rev. Immunol.* **10**, 267–93.
6. Arends, M.J., Morris, R.G. and Wyllie, A.H. (1990) Apoptosis. The role of the endonuclease. *Amer. J. Path.* **136**, 593–608.
7. Gavrieli, Y., Sherman, Y. and Ben-Sasson, S.A. (1992) Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J. Cell.* **119**, 493–501.
8. Agarwala, S. and Kalil, R.E. (1998) Axotomy-induced neuronal death and reactive astrogliosis in the lateral geniculate nucleus following a lesion of the visual cortex in the rat. *J. Comp. Neurol.* **392**, 252–63.
9. Review Article (1998) DeadEnd™ Colorimetric Apoptosis Detection System: Applications in pathology. *Neural Notes* **12**, 5–8.
10. O' Brien, et al. (1998) DeadEnd™ Colorimetric Apoptosis Detection System: Applications in pathology. *Promega Notes* **69**, 2–5.
11. Weis, M. et al. (1995) Cellular events in Fas/APO-1-mediated apoptosis in JURKAT T lymphocytes. *Exp. Cell Res.* **219**, 699–708.
12. Polverino, A.J. and Patterson, S.D. (1997) Selective activation of caspases during apoptotic induction in HL-60 cells. *J. Biol. Chem.* **272**, 7013–21.

8. 内容变更总结

对本文件 1/19 版作了以下变更：

1. 已更新产品描述，包含了如何使用光学显微镜进行检测。
2. 已更新产品组分列表，以反映新的组分名称和规格。
 - a. 该系统中不再包含 20X 过氧化氢，且其相关操作步骤已被删除。
3. 已将试剂制备信息添加到第 3.A 节。
4. 已添加新的相关产品，并删除停产的产品。

© 2018 Promega Corporation. All Rights Reserved.

Anti-ACTIVE, Apo-ONE, Caspase-Glo, CellTiter 96, CellTiter-Blue, CellTiter-Glo and CytoTox 96 are registered trademarks of Promega Corporation. CaspACE, CellTiter-Fluor, CellTox, CytoTox-ONE, DeadEnd, LDH-Glo and RealTime-Glo are trademarks of Promega Corporation.

Hemo-De is a registered trademark of Scientific Safety Solvents. Lab-Tek is a registered trademark of Nalge Nunc International. Permout is a registered trademark of Fisher Scientific Company. Poly-Prep is a registered trademark of Bio-Rad Laboratories, Inc. Superfrost is a registered trademark of Erie Scientific. Triton is a registered trademark of Union Carbide Chemicals & Plastics Technology Corporation.

Products may be covered by pending or issued patents or may have certain limitations. Please visit our Web site for more information.

All prices and specifications are subject to change without prior notice.

Product claims are subject to change. Please contact Promega Technical Services or access the Promega online catalog for the most up-to-date information on Promega products.