

گزارش خدمات تخصصی شرکت آوین بنیان ژن
TUNEL staining (DAB)



پس از مراحل پارافین زدایی لام ها با (P4417 -Sigma) PBS شسته شده سپس (H2O2(1-84-7722 -Sigma) و متانول را با نسبت 1 به 9 مخلوط کرده و 10 دقیقه روی نمونه قرار داده می شود). H2O2 اندوژنز پروکسیدازها را پوشانده و تمام عواملی را که باعث اتصال ماده اصلی به دیگر نقاط می شود را حذف می کند. پس از آن نمونه ها 3 مرتبه با PBS هر بار به مدت 5 دقیقه شستشو داده می شود. سپس پروتئیناز (K(21627M -Sigma) به مدت 30 دقیقه در دمای 37 درجه روی نمونه قرار می گیرد. پس از آن 3 مرتبه با PBS شسته شده و تریتون 0/3 درصد به منظور افزایش نفوذپذیری هسته به نمونه اضافه میشود و به مدت 10 دقیقه روی نمونه باقی می ماند. نمونه ها 3 مرتبه با PBS شسته می شوند. آنزیم TdT را به مدت 2 ساعت در دمای 37 درجه روی نمونه قرار داده و پس از آن 3 مرتبه با PBS شسته می شود. در محیط تاریک 50 میکرو لیتر POD به نمونه اضافه کرده و پس از 30 دقیقه با PBS شسته می شود. در ادامه 100 میکرو لیتر از محلول (DAB(ACV999-ScyTek) به نمونه اضافه می شود. نمونه ها پس از 5 دقیقه با آب شستشو داده و در انتها به مدت 10 ثانیه داخل رنگ هماتوکسلین قرار داده می شود. پس از آن دوباره با آب شستشو و بعد از مراحل آبیگری و شفاف سازی، لام را روی نمونه چسبانده و با میکروسکوپ نوری (LABOMED) عکس برداری انجام می شود.

روش تهیه پروتئیناز K مقدار 1 میکرو لیتر پروتئیناز K به 999 میکرو لیتر PBS اضافه می شود.

روش تهیه تریتون 3 (Triton(3) درصد مقدار 3 میکرو لیتر تریتون (T8787- Sigma (x100) به 997 میکرو لیتر PBS اضافه شد و تریتون 0/3 درصد بدست آمد.

روش تهیه معرف TdT (Roche - 11684817910) مقدار 50 میکرو لیتر از Solution Enzyme به 450 میکرو لیتر Solution Lable اضافه می شود.