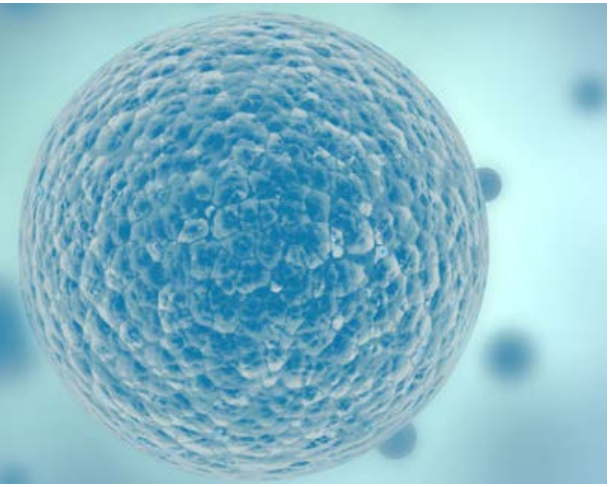
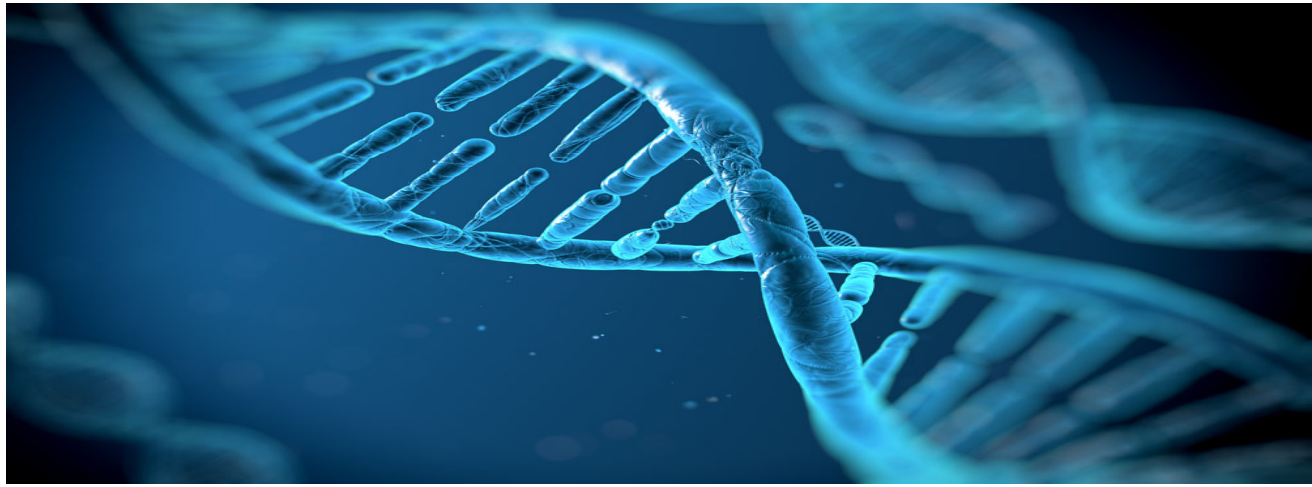




碧云天细胞凋亡检测技术服务

Apoptosis Detection by Beyotime

碧云天 Beyotime

碧云天网站

微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订购热线：400-168-3301或800-8283301
技术咨询：info@beyotime.com
技术服务：service@beyotime.com
网址：http://www.beyotime.com

碧云天细胞凋亡检测技术服务

概述

细胞凋亡（Apoptosis)是指为维持内环境稳定，由基因控制的细胞自主的有序的死亡。细胞凋亡与细胞坏死不同，凋亡是细胞的主动过程，涉及一系列基因的激活、表达以及调控等，为更好地适应生存环境而主动争取的一种死亡过程。

细胞凋亡的主要形态学特征是染色质断裂为大小不等的片段，并与某些细胞器一起聚集，为反折的细胞膜包围，形成凋亡小体。碧云天可以提供多种方法的细胞凋亡检测服务：如磷脂酰丝氨酸外翻分析法（Annexin V法）、TUNEL法、凋亡相关基因及蛋白检测等。

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

概述

凋亡细胞的基本特征包括：

- 胞质凝缩，染色质聚集及边缘化，细胞核崩解，细胞以出芽的方式形成凋亡小体，并被邻近的巨噬细胞等吞噬消化。
- 膜内侧磷脂酰丝氨酸外翻。
- 凋亡过程中细胞内溶物不被释放，故不会引起炎症反应。
- 凋亡细胞中仍存在蛋白质的合成反应。
- 内切核酸酶被活化，导致染色质DNA在核小体连接处断裂，形成180~200bp整数倍的核酸片断，凝胶电泳图谱呈梯带状（DNA ladder)等。

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

检测方法

一、形态学检测：根据凋亡细胞固有的形态特征，人们已经设计了许多不同的细胞凋亡形态学检测方法。

1. 光学显微镜和倒置显微镜：

- 未染色细胞：凋亡细胞的体积变小、变形，细胞膜完整但出现发泡现象，细胞凋亡晚期可见凋亡小体。贴壁细胞出现皱缩、变圆、脱落。
- 染色细胞：常用姬姆萨染色、瑞氏染色等。凋亡细胞的染色质浓缩、边缘化，核膜裂解、染色质分割成块状和凋亡小体等典型的凋亡形态。

碧云天 Beyotime

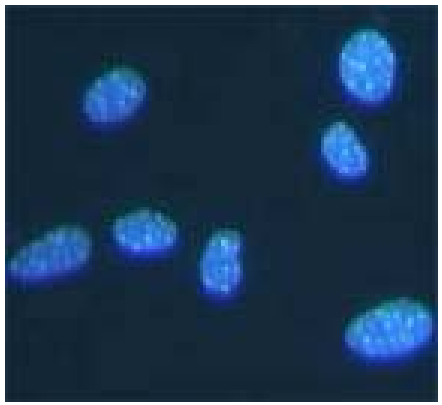
碧云天细胞凋亡检测技术服务

检测方法

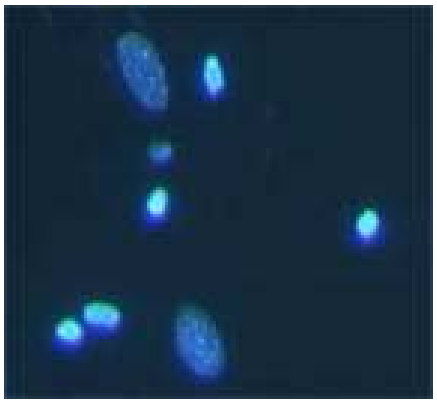
2. 荧光显微镜和共聚焦激光扫描显微镜：一般以细胞核染色质的形态学改变为指标来评判细胞凋亡的进展情况。

常用的染料有：HO 33342 (Hoechst 33342)，HO 33258 (Hoechst 33258), DAPI。三种染料主要结合在DNA的A-T碱基区。紫外光激发时发射明亮的蓝色荧光。

碧云天Hoechst染色试剂盒



正常细胞核



刺激后有致密浓染的凋亡细胞

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

检测方法

二、磷脂酰丝氨酸外翻分析(Annexin V法)

- 磷脂酰丝氨酸（PS）正常位于细胞膜的内侧，在细胞凋亡的早期，PS可从细胞膜的内侧翻转到细胞膜的表面，暴露在细胞外环境中。Annexin-V能与PS高亲和力特异性结合。将Annexin-V进行荧光素(FITC、EGFP、PE)或biotin标记，以标记的Annexin-V作为荧光探针，利用流式细胞仪或荧光显微镜可检测细胞凋亡的发生。

- 碘化丙啶(propidine iodide，PI)是一种核酸染料，它不能透过完整的细胞膜，但在凋亡中晚期的细胞和死细胞，PI能够透过细胞膜而使细胞核红染。因此将Annexin-V与PI匹配使用，就可以将凋亡早晚期的细胞以及死细胞区分开来。

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

检测方法

三、线粒体膜势能的检测

- 线粒体在细胞凋亡的过程中起着枢纽作用，多种细胞凋亡刺激因子均可诱导不同的细胞发生凋亡，而线粒体跨膜电位的下降，被认为是细胞凋亡级联反应过程中最早发生的事件，它发生在细胞核凋亡特征(染色质浓缩、DNA断裂)出现之前。

- JC-1是一种广泛用于检测线粒体膜电位的理想荧光探针。在线粒体膜电位较高时，JC-1聚集在线粒体的基质中，形成聚合物，可以产生红色荧光；在线粒体膜电位较低时，JC-1不能聚集在线粒体的基质中，产生绿色荧光。这样就可以通过荧光颜色的转变来检测线粒体膜电位的变化。

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

检测方法

四、DNA片断化检测

- 细胞凋亡主要的特征是染色质浓缩，染色质DNA断裂，形成50~300kbp长的DNA大片段，或180~200bp整数倍的寡核苷酸片段。

  方法：凋亡细胞DNA含量的流式细胞计分析

  收集细胞，70%冷乙醇(in PBS)4°C固定过夜，PBS洗涤，1000rpm离心10min，RNase A(0.5mg/ml)37°C消化30min，碘化丙啶(50mg/ml)染色，室温避光15min，FACScan分析DNA亚二倍体的形成及细胞周期的变化。

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

检测方法

五、TUNEL法

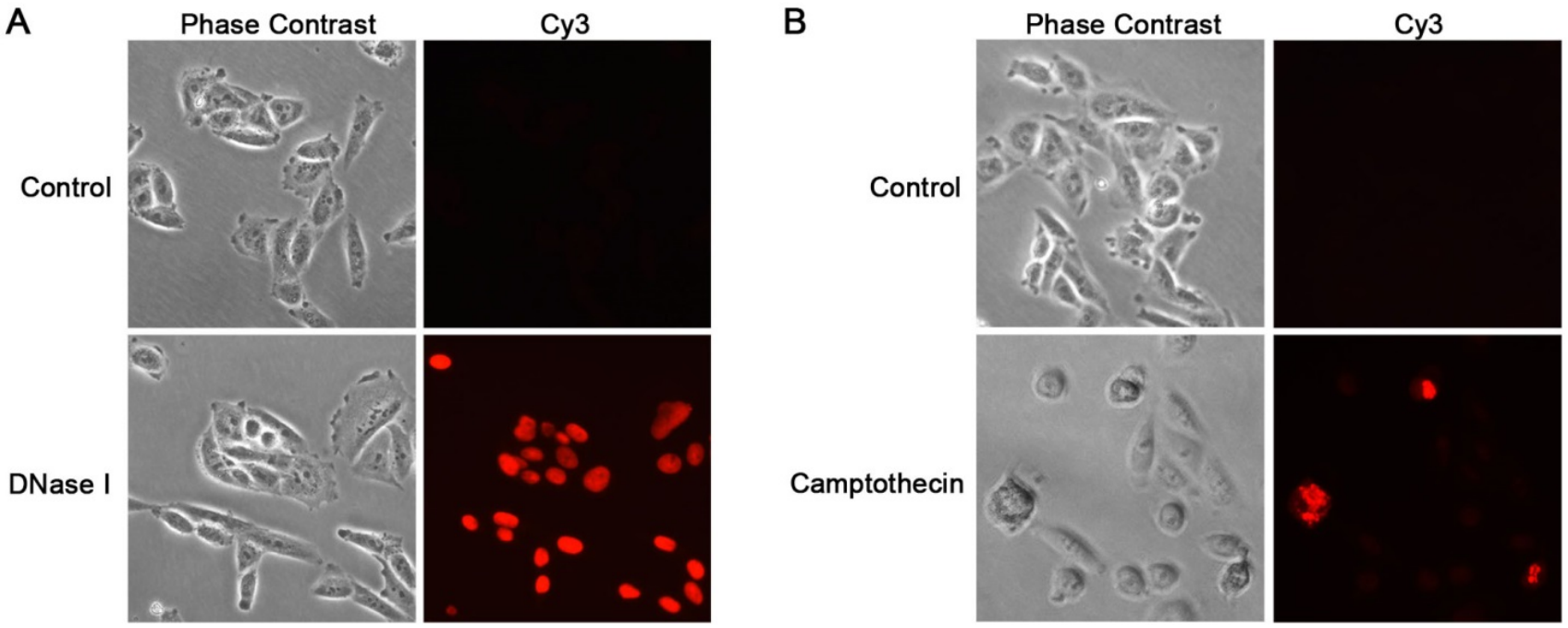
- 细胞凋亡中，染色体DNA断裂产生大量的粘性3'-OH末端，可在脱氧核糖核苷酸末端转移酶（TdT）的作用下，将脱氧核糖核苷酸和荧光素、过氧化物酶、碱性磷酸酶或生物素形成的衍生物标记到DNA的3'-末端，从而可进行凋亡细胞的检测，这类方法称为脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法（TUNEL）。

- TUNEL能准确地反应细胞凋亡的生物化学和形态特征，可用于石蜡包埋组织切片、冰冻组织切片、培养的细胞和从组织中分离的细胞的细胞形态测定，并可检测出极少量的凋亡细胞，因而在细胞凋亡的研究中被广泛采用。

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

检测方法



碧云天一步法TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(红色荧光) 的检测效果图。A. HeLa细胞未经处理或用DNase I室温孵育10分钟后的检测效果图。B. HeLa细胞未经处理或用10μM喜树碱(Camptothecin)处理24小时后的检测效果图。图中的红色荧光为TUNEL染色阳性细胞。

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

检测方法

六、Caspase家族活性的检测

- Caspase家族在介导细胞凋亡的过程中起着重要作用，其中caspase-3为关键的执行分子，在凋亡信号传导的许多途径中发挥功能。Caspase-3正常以酶原(32KD)的形式存在于胞浆中，在凋亡的早期阶段，它被激活，活化的Caspase-3由两个大亚基(17KD)和两个小亚基(12KD)组成，裂解相应的胞浆胞核底物，最终导致细胞凋亡。但在细胞凋亡的晚期和死亡细胞，caspase-3的活性明显下降。

- 碧云天caspase 3活性检测试剂盒是基于caspase 3可以催化底物Ac-DEVD-pNA(acetyl-Asp-Glu-Val-Asp p-nitroanilide)产生黄色的pNA，从而可以通过测定吸光度来检测caspase 3的活性。pNA在405nm附近有强吸收。

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

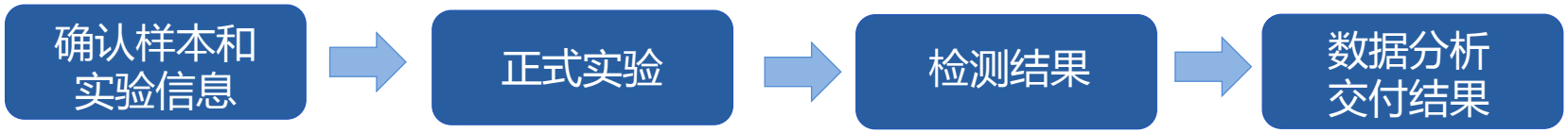
碧云天的优势

- **金品质：**碧云天凭借多年细胞凋亡试剂及相关产品研发经验，提供高灵敏度、高特异性的细胞凋亡检测试剂；
- **高质量：**碧云天技术服务人员拥有丰富的操作经验和精湛的技术，严格操作，保证高效、精准地完成检测；
- **服务全：**碧云天提供多种细胞凋亡检测方法，满足客户个性化科研需求；
- **价格低：**碧云天以最优惠的价格为客户提供最全面的服务，帮助客户合理节约科研经费；
- **时间短：**碧云天拥有全套检测设备和专业实验平台，在最短的时间内为客户提供服务。

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

服务流程



附件 《碧云天细胞凋亡检测询价单》

《碧云天细胞凋亡检测生物样品信息表》

《碧云天细胞凋亡检测生物送样要求》

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

询价与订购

- 请您下载并填写《碧云天细胞凋亡检测技术服务询价单》，发送至service@beyotime.com，我们的专业技术人员将在第一时间为您提供准确报价。
- 若有订购意向，碧云天的技术服务人员会与您联系，并签订《碧云天细胞凋亡检测服务协议书》。
- 送样时，请下载并填写《碧云天细胞凋亡检测生物样品信息表》，发送至service@beyotime.com或碧云天技术服务人员邮箱，样品的具体要求参见《碧云天细胞凋亡检测生物送样要求》。

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

客户须知

服务说明

- 客户应对所提供的材料及信息负责，如因客户提供的材料及信息不准确而引起的实验延误或经济损失由客户承担。

- 因科学实验的不确定性，实验结果不一定会出现阳性结果，我们保证实验结果的真实准确性，但是对结果是否符合预期不做承诺。

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

客户须知

样品要求

- 细胞悬液或贴壁细胞：每份样本至少 1×10^6细胞，在运输前将培养液充满整个容器，25T细胞瓶常温运输。
- 组织样本：用于石蜡包埋的组织，活检或手术切除标本应在2小时内取材或固定，避免组织自溶及抗原变性等影响免疫组化结果。用于冰冻切片的组织，取材后应立即液氮速冻，-80℃保存。组织块较理想的体积为 2.0cm×2.0cm×0.3cm。
- 组织切片：切片厚度一般5 μm，特殊组织厚度可达10 μm。
- 客户需提供待检测样本详细信息：如种属来源、样本类型等。
- 运输要求：参考《碧云天细胞凋亡检测生物送样要求》，样本应避免各类污染和反复冻融。
- 因不同凋亡检测方法，样品处理要求有所不同，具体咨询碧云天技术服务人员。

碧云天 Beyotime

碧云天细胞凋亡检测技术服务

服务承诺

碧云天细胞凋亡检测技术服务承诺

- 碧云天细胞凋亡检测实验交付：
  - ✓ 实验报告
  - ✓ 数据分析结果
  - ✓ 原始数据

碧云天 Beyotime

Thank You

碧云天 Beyotime

碧云天网站

微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订购热线：400-168-3301或800-8283301
技术咨询：info@beyotime.com
技术服务：service@beyotime.com
网址：http://www.beyotime.com