

彗星法DNA损伤检测试剂盒

产品货号: 26126

产品规格: 20T/100T

产品简介:

彗星分析又称单细胞凝胶电泳分析,为检测细胞内DNA损伤提供简便有效的方法。其检测原理是基于变性的原理,待测细胞被裂解处理以使DNA解旋和变性,之后细胞核进行电泳,使得细胞在彗星玻片上平铺的低熔点琼脂糖上移动。损伤的DNA片段会在电场作用下从细胞核中迁出,而未损伤DNA则迁移缓慢且只能保持在细胞核中,之后使用与DNA相互作用的荧光染料进行染色使结果可视。最终形成的DNA彗星尾形状和迁移模式,包括碱性彗星尾长度,尾部DNA百分比以及尾矩的计算等数据可使用图像分析软件进行,最终用于评估细胞中DNA的损伤。

产品组成:

试剂名称	20T	100T	保存条件
细胞裂解液	100ml	500ml	2-8℃
DMSO	8ml	40ml	2-8℃
常规熔点琼脂糖	30mg	150mg	2-8℃
低熔点琼脂糖	40mg	200mg	2-8℃
溴化乙锭溶液	400 μl	2ml	2-8℃, 避光

操作方法:

1. 将细胞用胰酶消化处理,再用预冷PBS洗一次(如为悬浮细胞,可直接离心收集),离心收集,再用PBS重悬细胞,使细胞密度约 1×10^8 个/ml;
2. 取100 μl预热的0.5%常规熔点琼脂糖溶液铺于载玻片上,盖上载玻片,4℃凝固5~10min后,移去盖玻片;
3. 将10-20 μl细胞悬液与已经融化的0.8%低熔点琼脂糖溶液可以在42℃水浴中预先处理至少20min以上,融化后备用)在42℃水浴中以体积比1:7混匀,将混合液滴在上步铺胶后的载玻片上,盖上盖玻片,4℃凝固5~10min;
4. 小心移去盖玻片,在上述两层胶上小心铺设120 μl已经融化的0.8%低熔点琼脂糖溶液(可以在42℃水浴中预先处理至少20min以上,使之融化),盖上载玻片,4℃凝固30min;
5. 小心移去盖玻片,将载玻片置于干净皿具中,倒入预冷的细胞裂解液(使用前,每9ml细胞裂解液添加1ml DMSO),4℃裂解1-2h,取出后用PBS清洗2-3次;
6. 将载玻片放入水平电泳槽,加入自备碱性电泳液(成份1mM EDTA,300mM NaOH),没过载玻片上胶面的高度约3cm,室温放置60min;电压25V,电泳时间30-40min(根据时间自行优化);
7. 将载玻片置于干净皿具中,加入0.4mM Tris-HCl(pH7.5)缓冲液(须自备),4℃中和10min,重复该步骤3次;
8. 弃去缓冲液,在载玻片胶面位置加入20-30 μl溴化乙锭溶液,染色10min;
9. 用相应的荧光显微镜观察、拍照、分析。

DNA损伤按彗星尾部DNA量占全部DNA量的比例分为5级:

- 0 级: <5% 无损伤
- 1 级: 5~20% 轻度损伤
- 2 级: 20~40% 中度损伤
- 3 级: 40~95% 高度损伤
- 4 级: >95% 重度损伤

注意事项:

1. 溴化乙锭溶液有致癌性,注意安全操作。
2. 实验条件可根据特定情况进行妥善优化。

有效期: 12个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com