

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℃，避光
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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com