



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

细胞凋亡-DNA Ladder 抽提试剂盒

产品编号	产品名称	包装
R33008-50T	细胞凋亡-DNA Ladder 抽提试剂盒	50T

产品简介:

源叶生产的细胞凋亡-DNA Ladder 抽提试剂盒, 是针对细胞凋亡过程中产生的核小体间 DNA 链断裂而设计的。可以非常有效地抽提最小片段为 180-200bp 的 DNA ladder, 同时又可以抽提到 50kb 以上的基因组 DNA。

DNA ladder 也称 DNA fragmentation, 是细胞凋亡的一个重要指标。通常观察到 DNA ladder, 就可以判定细胞发生了凋亡。

本试剂盒足够抽提 50 个细胞或组织样品。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R33008-50T	样品裂解液	30ml
	蛋白酶 K	130μl
	10M 醋酸铵	6ml
	TE	6ml
——	说明书	一份

保存条件:

-20℃ 保存, 一年有效。

注意事项:

需自备 Tris 平衡苯酚、氯仿和无水乙醇。

本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。

为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 样品收集

a. 对于组织样品:

切下组织, 并剪切成小块, 置液氮中冻结, 研碎或捣碎。或直接冰浴上匀浆。

b. 对于贴壁细胞:

胰酶消化后, PBS 或生理盐水洗一次, 1000-2000g 离心 1-2 分钟, 弃上清, 收集细胞。

c. 对于悬浮细胞:

1000-2000g 离心 1-2 分钟, 弃上清, 收集细胞。

2. DNA ladder 抽提

a. 每 1 毫升样品裂解液中加入 5 微升蛋白酶 K, 混匀。

b. 对于上述收集好的样品, 每 5 毫克组织或者 10⁶ 个细胞中加入 500 微升添加了蛋白酶 K 的样品裂解液, Vortex 混匀, 充分裂解组织或细胞。

c. 50°C 水浴消化过夜(通常 12-20 小时皆可)。

d. 加入 500 微升 Tris 平衡苯酚(pH8.0)。

e. Vortex 剧烈混匀, 使有机相和水相充分混合, 以达到抽提效果。4°C, 12,000g 离心 5 分钟。

f. 缓慢吸出上层水相至另一洁净离心管中。注意勿触及中间层, 中间层通常含有变性的蛋白等, 并用等体积 Tris 平衡酚再抽提一次(同步骤 e)。

g. 缓慢吸出上层水相至另一洁净离心管中。注意勿触及中间层, 中间层通常含有变性的蛋白等, 并用等体积氯仿再抽提一次(同步骤 e)。

h. 慢慢吸出约 300 微升上清液, 加入 60 微升 10M 醋酸铵和 600 微升无水乙醇, 颠倒数次混匀, 此时可见 DNA 沉淀产生。 -20°C 冻存 1 小时, 以充分沉淀小片段 DNA。冻存过夜或 -70°C 冻存效果更佳。

i. 4°C, 12,000g 离心 10 分钟, 弃上清。

j. 加入 600 微升 70%乙醇, 轻轻颠倒约 2 次。4°C, 12,000g 离心 10 分钟, 小心吸去上清。注意: 70%乙醇洗涤的时候, 千万注意避免损失一些细小的 DNA 沉淀, 这些沉淀中大部分是你所需的 DNA ladder。

k. 尽量吸除残余的乙醇, 待看不到明显的液体时, 立即加入 50-100 微升 TE 溶解 DNA。注意: 不可过分干燥基因组 DNA 沉淀, 否则会极难溶解。如果发现 DNA 沉淀难以溶解, 可以在 4°C 用摇床缓慢摇动过夜, 以溶解 DNA 沉淀。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

1. 取部分抽提得到的 DNA，1%琼脂糖凝胶电泳分析。如果细胞发生凋亡，就可以观察到典型的 DNA ladder。电泳时一定要注意换用新鲜配制的电泳液，DNA 凝胶也要用新鲜配制的电泳液配制并新鲜配制后使用。电泳时为获取最佳的电泳效果使 ladder 充分分开，电泳速度宜适当慢一些，凝胶宜适当长一些，而加样孔宜更加扁平一些。选取适当较薄的梳齿，往往会获得更好的 ladder 电泳效果。

