



DNA Ladder 检测试剂盒说明书（简化版）

（G011-1-1）

一、产品简介

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。在细胞发生凋亡时，核酸内切酶被激活，选择性降解染色质 DNA，形成 50-300 kb 的大片段，并进而在核小体连接处断裂，形成 180-200 bp 或其整倍数的 DNA 片段，这些 DNA 片段可从细胞中提取出来，通过琼脂糖凝胶电泳，溴化乙啶染色呈现为梯状条带（DNA Ladder），并据此判断细胞凋亡产生。DNA Ladder 检测试剂盒提供了一种简便、快速地提取染色质 DNA 的方法，并增加对小片段 DNA 的回收，从而增强了检测的敏感性。

本试剂盒可应用于培养细胞凋亡检测（不推荐用于检测组织样本）。

二、试剂盒组份

试剂编号	组份	G011-1-1: 20T	储存条件
R1	裂解液	1 ml	4℃
R2	酶 A	0.1ml	-20℃
R3	酶 B	0.1ml	-20℃
R4	醋酸铵溶液	0.8 ml	4℃
R5	上样液	0.1ml	4℃

三、自备仪器和试剂

高速离心机、移液器、涡旋振荡器、电泳仪、水浴锅，1.5m L 离心管、PBS、胰酶消化液、冰乙醇、TE Buffer，琼脂糖，TBE、溴化乙啶、DNA Ladder Marker。

四、保存条件：

酶-20℃保存。其他溶液可 4℃保存

六、操作步骤

- 1、按常规操作离心收集准备好的 5×10^5 细胞（2000rpm，4℃，离心 5min）于 1.5ml 离心管中；
- 2、用 PBS 洗涤细胞二次（2000rpm，4℃，离心 5min），弃上清；
- 3、沉淀的细胞中加入 50 μ l 裂解液，用移液管尖混匀细胞沉淀（注意：不要形成强烈的涡旋，否则高分子量 DNA 可能会被剪切）；
- 4、再每管加入 5 μ l 酶 A 溶液，轻弹管尖混匀，不要形成涡旋，37℃ 孵育 10-20min；
- 5、在上述溶液中每管加入 5 μ l 酶 B 溶液，轻弹管尖混匀后，50℃ 孵育 30min 或至溶液澄清为止；
- 6、加入 40 μ l 醋酸铵和 200 μ l 冰乙醇（99-100%），混匀，置于 -20℃，静置 20-30min；
- 7、4℃，12000-14000 rpm 离心 10min，小心弃去上清，收集沉淀的 DNA；
- 8、加入 0.5ml 70% 的冷乙醇，洗 DNA 沉淀，再 12000-14000rpm 离心 10min；
- 9、弃上清，DNA 沉淀与室温干燥 10min 后，加入 10-15 μ l TE Buffer，充分搅拌溶解 DNA；
- 10、取上述 10-15 μ l 样品加入 2-3 μ l 上样液，1.5% 琼脂糖凝胶电泳（凝胶和电泳缓冲液 TBE 均加入 0.5 μ g/ml 的溴化乙啶）；
- 11、5V/cm 电泳 1 小时，紫外灯下观察并拍照；