

For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures

Version 2.0

彗星电泳法检测细胞损伤试剂盒

Comet Assay for DNA Damage Detection Kit



Do not eat

Store at +2 to +8° C & in the dark.

Cat.No. MG10221

Technical literature is available at: www.mesgenbio.com. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com

产品原理

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。

试剂盒组成

产品组成	20 tests	50 tests	100 tests
细胞裂解液 CL	100ml	250ml	500ml
DMSO	8ml	20ml	40ml
常规熔点琼脂糖 NMA	30mg	75mg	150mg
低熔点琼脂糖 LMA	40mg	100mg	200mg
溴化乙锭溶液	400ul	1ml	2ml

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 1×10^6 个/ml；
- 2: 取100ul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10-20ul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120ul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20-30ul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

储存条件

2-8℃，溴化乙锭溶液须避光。

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。

仅供科学研究，不得用于临床治疗

For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures.

