

Version: AA 3.2 (2021.04.01修订)

SPARKclassic DNA Ladder Kit

选择性凋亡DNA Ladder抽提试剂盒

(溶液型)

目录号: AA1702

01/产品组分

序号	组分	25 次 AA1702-A	50 次 AA1702-B
1	Extraction buffer	5 mL	10 mL
2	10% SDS	500 μ L	1 mL
3	Enzyme A	500 μ L	1 mL
4	Enzyme B	500 μ L	1 mL
5	Precipitant	3.5 mL	7 mL

02/保存条件

Enzyme A、Enzyme B于-20℃保存，Extraction buffer、Precipitant于4℃保存，其它组分室温（15-25℃）保存。

03/产品概述

本试剂盒适用于快速提取凋亡 DNA Ladder，可在 3-4 h 内完成单个或多个样本的提取工作。凋亡（apoptosis）或程序性死亡的细胞一个形态学的显著特点是染色体 DNA 以核小体为单位（185 bp）规律断裂形成长度约为 $n \times 185$ bp ($n=1, 2, 3, 4, \dots$) 的 DNA 片段，经琼脂糖凝胶电泳显示为阶梯状凋亡 DNA Ladder，是凋亡细胞最直观的特征。

本试剂盒选择性从组织和细胞中分离提取凋亡 DNA ladder，通过选择性分离基因组 DNA 与凋亡 DNA ladder，最大限度的减少了基因组 DNA 对凋亡 DNA ladder 的观察干扰，因此显著的提高了检测敏感度。推荐起始细胞量为 $5-10 \times 10^5$ 个，但投入的细胞量可在 $1 \times 10^5-5 \times 10^6$ 之间变化。原则是总细胞中应含有至少约 $1-2 \times 10^4$ 个凋亡细胞。多于 2×10^4 个凋亡细胞通常可获得十分清晰的凋亡 DNA ladder。

本试剂盒也可用于从组织中提取凋亡 DNA ladder。但与培养细胞相比，整体动物组织凋亡细胞出现的时间、部位、程度等规律性差往往造成难以准确取材，可能显著影响实验结果。但只要组织确实发生凋亡，有经验的用户也可以使用本试剂盒从组织提取凋亡 DNA ladder。

04/自备材料

PBS、异丙醇、70%乙醇、双蒸水/TE buffer、agarose、溴化乙锭

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

◇ Enzyme A 和 Enzyme B 为酶溶液，应该避免反复冻融降低活性，如果要分多次使用，最好按照每次使用量分装后-20℃保存。

06/使用方案

1. 用PBS漂洗细胞两遍后500×g 4℃离心5 min收集5-10×10⁵个细胞。小心用移液枪吸弃上清，除尽管壁附着液体。
2. 将离心管底部的细胞沉淀用手指轻轻弹松打散后，加入100 μL的Extraction buffer，用振荡器激烈混合10 s后，1,100-1,600×g离心5 min。
3. 勿触动管底沉淀，将上清液转移到新的1.5 mL离心管。
4. 沉淀按操作2方法再重复一次。
5. 把上清液与操作3的上清液合并于一起共约200 μL，作为粗提取液（含有凋亡DNA片段，未凋亡染色体DNA已经通过沉淀去除）。
6. 向粗提取液中加入10% SDS溶液20 μL后，再加入Enzyme A 20 μL，混匀，56℃温育1 h。
7. 向上述混合液中加入Enzyme B 20 μL，混匀，37℃温育1 h，或者直到变得透亮（可过夜）。
8. 向上述混合液中加入Precipitant 130 μL后，颠倒混匀，再加入1 mL的乙醇，混匀后-20℃放置1 h以上（沉淀凋亡DNA片段）。
9. 至少12,500 rpm（14,500×g）4℃离心15 min，弃上清，加1 mL 70%乙醇漂洗一遍后离心，倒去乙醇，并且尽量吸除管壁附着液体。
敞开管口，室温晾干沉淀。
10. 用17 μL双蒸水或TE Buffer充分溶解沉淀，加3 μL 6×DNA凝胶上样缓冲液震荡混匀。取全部20 μL上样或者适量上样进行1%琼脂糖凝胶电泳。溴化乙锭染色，紫外观察照相（凋亡发生率较低时，添加过量TE Buffer溶解沉淀有可能导致浓度太稀，无法检出DNA Ladder，因此可减少用量，反之，可增加）。

07/相关产品

AA1904-A	RNase A (10 mg/mL)
AA1701	SPARKeasy 凋亡DNA Ladder快速提取试剂盒
AC1709	RNase Free and DNase Free纯水
AJ0101	Spark 2000 DNA Marker
AJ0102	Spark 5000 DNA Marker

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

