

DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒

产品货号：26391

产品规格：50T

产品简介：

表观遗传学是研究在基因的核苷酸序列不发生改变的情况下，基因的表达和调控的可遗传变化的一门遗传学分支学科。其中DNA甲基化是被最早发现，也是研究最为深入的表观遗传调控机制之一。在许多动植物中，DNA甲基化是以S-腺苷甲硫氨酸为甲基供体，在甲基转移酶的催化下，胞嘧啶嘧啶环的第五个碳位置共价结合一个甲基基团。

在原核生物和真核生物中DNA甲基化是一种自然发生的事件。在原核生物中，DNA甲基化可保护宿主DNA不被限制性内切酶消化，而这些限制性内切酶可以消除外源DNA；在高等真核生物中，DNA甲基化在基因表达的调控中发挥重要作用。

本产品是利用亚硫酸氢盐处理甲基化的DNA，将未甲基化的胞嘧啶转化为尿嘧啶，而甲基化的胞嘧啶保持不变，整个过程可在4h内完成，转化效率可达99%以上。同时本产品采用于磁珠上脱硫并回收DNA的方法，有效提高转化后的DNA的回收量，整个操作流程极为简便。经转化后的DNA可用于PCR扩增和下游分析实验，包括限制性内切酶酶切、测序、微阵列等。

产品组成：

产品组成	50T	保存条件
CT Conversion Reagent	10次/管×5支	室温
Buffer BM	1.5mL	室温
Buffer GB	10mL	室温
Buffer DB	3.6mL (使用前加入8.4mL无水乙醇)	室温
Buffer PW	24mL (使用前加入56mL无水乙醇)	室温
SweMag Beads	1mL	室温
Nuclease-free Water	10mL	室温

使用前准备：

1. CT Conversion Reagent使用前先加入280 μ L Buffer BM和910 μ L Nuclease-free Water，涡旋至溶解，-20 $^{\circ}$ C保存。
2. 使用前请向Buffer DB加入8.4mL无水乙醇，Buffer PW加入56mL无水乙醇，混匀后使用。
3. 自备磁力架，异丙醇。

操作步骤：

1. 取20 μ L基因组DNA（总量为500ng-2000ng，如果体积不足20 μ L可用Nuclease-free Water补足）置于PCR管内，加入130 μ L CT Conversion Reagent，使用移液器轻轻吹打混匀。
2. 将第一步的混合物转移至PCR仪中，设置98 $^{\circ}$ C 10min，64 $^{\circ}$ C 2.5h，运行结束后产物置于4 $^{\circ}$ C保存。
3. 向上述产物中加入150 μ L Buffer GB和130 μ L异丙醇，使用移液器吹打混匀，再加入15 μ L SweMag Beads（SweMag Beads使用前需涡旋至分散均匀），使用移液器吹打至磁珠分散均匀。
4. 室温放置10min，期间使用移液器吹打混匀3-4次，使磁珠保持分散均匀状态。



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

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

5. 将离心管移至磁力架上静置30s, 使磁珠吸附至管壁, 待上清清澈后, 吸弃上清(为避免影响提取效率, 勿将磁珠吸出)。
6. 将离心管从磁力架上取下, 向离心管中加入400 μ L Buffer PW, 使用移液器吹打至磁珠分散均匀, 再将离心管移至磁力架上静置30s, 使磁珠吸附到管壁, 待上清清澈后, 吸弃上清(为避免影响提取效率, 勿将磁珠吸出)。
7. 将离心管从磁力架上取下, 向离心管中加入200 μ L Buffer DB, 使用移液器吹打至磁珠分散均匀, 室温放置15min, 期间每隔3-5min吹打混匀一次(Buffer DB处理时间不应过长, 以免造成基因组DNA过度碎片化), 将离心管移至磁力架上静置30s, 使磁珠吸附到管壁, 待上清清澈后, 吸弃上清(为避免影响提取效率, 勿将磁珠吸出)。
8. 将离心管从磁力架上取下, 向离心管中加入400 μ L Buffer PW, 使用移液器吹打至磁珠分散均匀, 再将离心管移至磁力架上静置30s, 使磁珠吸附到管壁, 待上清清澈后, 吸弃上清(为避免影响提取效率, 勿将磁珠吸出)。
9. 重复步骤8。
10. 将离心管盖打开, 室温放置5-10min或65 $^{\circ}$ C放置3-5min, 使乙醇完全挥发(请勿使磁珠过度干燥, 以免影响核酸得率)。
11. 将离心管从磁力架上取下, 向离心管中加入30-50 μ L Nuclease-free Water, 使用移液枪将磁珠吹打至磁珠分散均匀, 室温静置5min。
12. 将离心管置于磁力架上, 直至磁珠完全吸附, 吸取上清至一新的离心管中, 即得转化后的DNA溶液。

注意事项:

1. 操作之前, 请务必认真阅读本产品说明书。
2. 磁珠易沉淀, 使用前应摇匀或涡旋均匀。
3. Buffer DB处理时间不能过长, 容易造成DNA过度碎片化, 影响后续实验。
4. 磁珠洗脱前应彻底去除乙醇, 避免残留乙醇影响DNA洗脱效率和下游实验。
5. 请勿长时间干燥磁珠, 以免引起不可逆的磁珠聚集。
6. 回收后的DNA请于-20 $^{\circ}$ C保存, 避免反复冻融。
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

效期: 12个月。



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