

亚硫酸氢盐转化试剂盒（柱式法）

产品货号：26394

产品规格：50T

产品简介：

表观遗传学是研究在核苷酸序列不发生改变的情况下，基因的表达和调控可遗传变化的一门遗传学分支学科。其中DNA甲基化是最早被发现，也是研究最为深入的表观遗传调控机制之一。

亚硫酸氢盐转化反应是研究基因组DNA甲基化模式的一种常用技术。本产品将亚硫酸氢盐转化反应与新型硅胶膜技术结合，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，转化效率可达99%以上。经转化后的DNA可用于下游分析实验，包括PCR扩增、限制性内切酶酶切、测序、微阵列等。

产品组成：

产品名称	50T	保存条件
Buffer BL	25mL	室温
CT Conversion Reagent	10次/管×5支	室温
Buffer BM	1.5mL	室温
Buffer BP	1mL×2支	-20℃
Buffer GB	20mL	室温
Buffer DB	8mL	室温
Buffer PW	20mL	室温
Nuclease-free Water	10mL	室温
DNA Spin Columns (with Collection Tubes)	50个	室温

使用前准备：

1. CT Conversion Reagent 使用前先加入 280μL Buffer BM、350μL Buffer BP 和 560μL Nuclease-free Water，涡旋至溶解，-20℃保存。
2. Buffer GB 使用前加入 12mL 异丙醇，混匀后使用。
3. Buffer DB 使用前加入 24mL 无水乙醇，Buffer PW 使用前加入 80mL 无水乙醇，混匀后使用。

操作步骤：

1. 柱平衡：向 DNA Spin Column 中加入 500μL Buffer BL，12,000rpm 离心 1min，去除 Collection Tube 中的废液，将 DNA Spin Column 重新放回 Collection Tube 中（处理过的 DNA Spin Column 当天使用）；
2. 在 200μL 离心管中配制亚硫酸氢盐转化体系：取 20μL 基因组 DNA（总量为 500ng-2000ng，如果不足 20μL 可用 Nuclease-free Water 补足），加 130μL CT Conversion Reagent，使用移液器轻轻吹打混匀；
3. 将反应体系转移至热循环仪中，98℃孵育 10min，64℃孵育 2.5h，4℃保存（可选）；
4. 反应结束后短暂离心，收集管壁溶液于管底，将反应液转移至 1.5mL 离心管中；
5. 加入 600μL Buffer GB（确认是否加异丙醇），使用移液器吹打混匀；
6. 将上一步所得溶液转移到 DNA Spin Column 中 12,000rpm 离心 1 min，弃掉 Collection Tube 中液体，将 DNA Spin Column 放入 Collection Tube 中；
7. 向 DNA Spin Column 中加入 600μL Buffer PW（确认是否加无水乙醇）12,000rpm 离心 1min，弃掉 Collection Tube 中液体，将 DNA Spin Column 放入 Collection Tube 中；
8. 向 DNA Spin Column 中加入 600μL Buffer DB（确认是否加无水乙醇），室温放置 15min，12,000rpm 离心 1min 弃掉 Collection Tube 中液体，将 DNA Spin Column 放入 Collection Tube 中；



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

9. 向 DNA Spin Column 中加入 600 μ L Buffer PW (请沿管壁加入 Buffer PW, 有助于冲洗管壁上残留的盐分), 12,000rpm 离心 1min, 弃掉 Collection Tube 中液体, 将 DNA Spin Column 放入 Collection Tube 中;
10. 重复步骤 9;
11. 12,000rpm 离心 2min, 将 DNA Spin Column 放入一新的 1.5mL 离心管中;
12. 将 DNA Spin Column 管盖打开, 室温放置 5-10min, 使乙醇完全挥发;
13. 向 DNA Spin Column 中加入 20 μ L Nuclease-free Water, 室温静置 2min;
14. 12,000rpm 离心 2min 即得到转化后 DNA。

注意事项:

1. 操作之前, 请务必认真阅读本产品说明书。
2. 柱平衡步骤中 Buffer BL 的加入能够改善吸附柱的吸附能力并提高吸附柱的均一性和稳定性, 消除高温、潮湿或其他不良环境因素对吸附柱造成的影响。
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. 回收后的 DNA 如果当天使用请于 2-8 $^{\circ}$ C 保存, 如果不能及时使用, 请于 -20 $^{\circ}$ C 保存。
5. 在后续的 PCR 扩增反应中, 建议 20 μ L 体系加入 2-3 μ L 产物作为模板。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: 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