

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

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.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

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>