



DNA Methylation Kit

DNA甲基化试剂盒

目录号：CW2140S（10 preps）
CW2140M（50 preps）

保存条件：室温（15-30℃）

产品内容

Component	CW2140S 10 preps	CW2140M 50 preps
CT Conversion Reagent	10 reactions	50 reactions
M-Dissolving Buffer	10 reactions	50 reactions
M-Dilution Buffer	400 μ l	2 ml
M-Buffer PA	15 ml	60 ml
M-Wash Buffer (concentrate)	2 ml	10 ml
M-Elution Buffer	1 ml	10 ml
Buffer PS	5 ml	15 ml
Spin Columns DS with Collection Tubes	10	50

产品简介

本试剂盒基本原理为DNA经亚硫酸氢钠处理后，可使未甲基化的胞嘧啶转变为尿嘧啶，而甲基化的胞嘧啶不变。并采用独创高温处理方法，极大的缩短了转变时间，提高了转变效率，转变效率可达到99%以上。同时采用硅基质膜式纯化柱通过简单的结合-洗涤-洗脱步骤，可从甲基化修饰后的溶液中回收纯化DNA，回收的DNA纯度高，完整性好，可直接用于测序、甲基化PCR检测、芯片分析、连接和转化、酶切、标记、显微注射、PCR和体外转录等各种分子生物学实验。

自备试剂：无水乙醇、75%乙醇。

实验前准备及重要注意事项

1. 产品配制方法：

(1) 10次包装配制方法：CT Conversion Reagent是固体混合物，一定要在首次使用前制备好。将2 ml无菌水、100 μ l M-Dissolving Buffer和300 μ l M-Dilution Buffer加入到CT Conversion Reagent管中。在55 $^{\circ}$ C溶解并震荡直至全部溶解。在使用之前将 CT Conversion Reagent 溶液在室温(20 $^{\circ}$ C -30 $^{\circ}$ C)下避光保存。每管的CT Conversion Reagent 是针对10次 DNA 处理设计的，为了得到较好的结果，配置好的CT Conversion Reagent应当立即使用，如果不立即使用，可将CT Conversion Reagent 溶液在-20 $^{\circ}$ C存储1周，使用前，请务必将存储的CT Conversion Reagent 溶液在室温下解冻，并且通过振动或颠倒2分钟以充分混匀，CT Conversion Reagent对光很敏感，所以要尽量减少在光下的暴露。

(2) 50次包装配制方法：CT Conversion Reagent、M-Dissolving Buffer均固体混合物，一定要在首次使用前制备好。将5 ml无菌水加入到M-Dissolving Buffer中震荡溶解，待固体全部溶解后将M-Dissolving Buffer管中溶液全部转移至CT Conversion Reagent管中同时补加5.5 ml无菌水。再将1.5 ml M-Dilution Buffer加入到CT Conversion Reagent管中。在55 $^{\circ}$ C溶解并震荡直至全部溶解。在使用之前将 CT Conversion Reagent 溶液在室温(20 $^{\circ}$ C -30 $^{\circ}$ C)下避光保存。每管的 CT Conversion Reagent 是针对50次 DNA 处理设计的，

为了得到较好的结果, CT Conversion Reagent应当在制备后立即使用, 如果不立即使用, 可将 CT Conversion Reagent 溶液在-20°C存储1周, 使用前, 请务必将存储的 CT Conversion Reagent 溶液在室温下解冻, 并且通过振动或颠倒2分钟以充分混匀, CT Conversion Reagent对光很敏感, 所以要尽量减少在光下的暴露。

2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在M-Wash Buffer中加入无水乙醇。

操作步骤

每次制备的DNA 范围在 1 ng-4 µg之间, 最佳量为500 ng-2µg。

1. 取**20 µl DNA**样品, 加入到离心管(自备)中, 如果样品量不足, 用水补至20µl。
2. 向DNA样品中加入**2.2 µl 的 M-Dilution Buffer**, 混匀样品。
3. 42°C水浴30分钟。
4. 向上步得到的样品中, 加入**220 µl配制好的 CT Conversion Reagent溶液**, 混匀, 80°C恒温水浴锅中避光孵育60分钟。
5. 向上步溶液中加入**480 µl M- Buffer PA**, 温和上下颠倒混匀。
6. 柱平衡: 向已装入收集管的吸附柱(Spin Columns DS)中加入**200 µl Buffer PS**, 12,000 rpm (~13,400×g)离心2分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
7. 将步骤5所得溶液全部加入到吸附柱(已装入收集管)中, 室温放置2分钟, 12,000 rpm离心1分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
注意: 吸附柱最大容量为750 µl, 若样品体积大于750 µl可分批加入。
8. 向吸附柱中加入**500 µl M- Buffer PA**, 12,000 rpm离心1分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
9. 向吸附柱中加入**650 µl M-Wash Buffer (使用前请先检查是否已加入无水乙醇)**, 12,000 rpm离心1分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
10. 12,000 rpm离心2分钟, 倒掉废液, 将吸附柱置于室温数分钟, 以彻底晾干。
注意: 这一步的目的是将吸附柱中残余乙醇去除, 乙醇残留会影响后续的酶促反应(酶切、PCR等)。
11. 将吸附柱放入一个新的离心管(自备)中, 向吸附膜中间位置悬空滴加**20 µl M-Elution Buffer (pH 8.5)**, 室温放置2分钟。12,000 rpm离心1分钟收集DNA溶液。
12. 向收集的20 µl DNA中加入**2.2 µl M-Dilution Buffer**, 室温静置30分钟。

13. 向溶液中加入**500 μ l**预冷的无水乙醇后颠倒混匀，并将溶液置于-20℃沉淀30分钟（过夜沉淀效果更好）。
14. 12,000 rpm离心15分钟，轻轻倒掉上清。
15. 加入75%乙醇，12,000 rpm离心1分钟，倒掉上清，室温下待乙醇挥发后，加入**20 μ l M-Elution Buffer**溶解，DNA置于-20℃保存。此步收集的DNA可以用于后续相关实验。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途