

常见问题

CT转化效率低

- 起始基因组 DNA 不纯或者使用量过多。请务必使用高质量的基因组 DNA，而且基因组 DNA 的用量不易过多，造成 CT 转化不充分。
- CT 转化试剂溶液配制及保存不当。严格按照说明书要求进行 CT 转化溶液的配制，并使 CT 转化试剂充分溶解，剩余的 CT 转化试剂溶液请置于-20°C 避光保存；再次使用时需要将其室温完全解冻之后使用。
- 脱硫步骤操作不当。CT 转化产物纯化过程中，需要去碘化，请严格按照说明书要求加入相应量的去碘化试剂和保证充足的去碘化时间。

DNA 回收率低

- Wash Buffer 中乙醇没有加入或 加入量不够: 按瓶子标签所示，加入正确的乙醇。
- 反应后的样品没有与 Binding Buffer 充分混匀: 用手剧烈震荡让样品与 Binding Buffer A 充分混匀。
- 洗脱效率不够: 洗脱时洗脱液加到膜中央，室温放置 3 分钟。增加洗脱的体积。

获得的 DNA 断裂、降解

- 样品没有按照要求保存。请使用新鲜样品，样品如果因为某些原因必须先行保存，可以将样品保存于-70°C 冰箱。
- 样品反复冻融。需要保存的样品应分割后保存于-70°C 冰箱，避免反复冻融，确保样品的 DNA 未降解。



EasySC DNA Methylation Kit

DNA 甲基化试剂盒

(离心柱型)

产品概述

EasySC DNA Methylation Kit 是ABP公司最新开发的一种 DNA 甲基化分析的试剂盒。本试剂盒采用将DNA变性和Bisulfite 转化合并为一步，优化了反应流程。此外，试剂盒还采用直接在柱内完成desulphonation 反应，减少了繁琐的DNA沉淀步骤，整个流程可在2小时内完成。试剂盒优化的工艺可最大限度地减少DNA模板的降解并提高DNA回收产率，以及实现未甲基化的胞嘧啶完全转化成胸腺嘧啶。回收的修饰 DNA 可直接用于 BSP (Bisulfite Sequencing PCR) 和 MSP (Methylation Specific PCR) 检测等。

产品特点

- ❖ 快速: 整个反应流程只需 2 小时;
- ❖ 简单: Desulphonation 反应及 DNA 回收都在一个柱内完成;
- ❖ >99% Bisulfite 转化效率以及 >75% DNA 回收效率。

适用范围

基因组 DNA，核酸内切酶消化的 DNA，线性化的质粒 DNA。

ABP Biosciences Inc

安迪福诺生物科技(武汉)有限公司

地址: 武汉市东湖新技术开发区高新大道666号
光谷生物城生物创新园C2-4栋五楼

电话: 400-066-7718 邮箱: info@abpbio.com

网址: www.abpbio.com www.abpbio.com.cn



试剂盒组分

Kit Component	D200-1 (50 preps)	D200-2 (200 preps)
CT Conversion Reagent*	5 Tubes	20 Tubes
Dilution Buffer	1.5 mL	7 mL
Dissolving Buffer	500 µL	1.2 mL
Binding Buffer	30 mL	120 mL
Wash Buffer**	6 mL	24 mL
Desulphonation Buffer	10 mL	40 mL
Elution Buffer	1.2 mL	5 mL
Mini Column	50	200
2 mL Collection Tube	50	200

* CT Conversion Reagent 使用前每管加 900 µL 纯水, 300 µL Dilution Buffer, 50 µL Dissolving Buffer 溶解。

** Wash Buffer 使用前须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。

保存条件

本试剂盒可在室温保存 12 个月。长期保存时建议在 2~8°C 下避光保存。Binding Buffer 放置时可能会有沉淀出来, 使用时须加热至 55°C 使沉淀消失。

实验准备

在使用之前, 请仔细阅读本说明书, 以便熟悉每一步的操作。

- CT Conversion Reagent 使用前每管加 900 µL ddH₂O, 300 µL Dilution Buffer, 50 µL Dissolving Buffer, 颠倒混匀 10 min, 使其充分溶解。
Note: CT Conversion Reagent 溶解后, 为了保证理想的效果, 请立即使用; 剩余的 CT Conversion Reagent solution 可在 4°C 避光保存一周, -20°C 避光保存 4 周。
- 按瓶子标签所示, 加入适量的无水乙醇至 Wash Buffer 中, 于室温保存。
- 准备无核酸和核酸酶污染的 Tip 头、离心管。

实验步骤

- 取一支 PCR 管, 加入 20 µL DNA 样品 (样品量在 1 ng-2 µg 之间, 最好在 200-500 ng 左右)。若体积不足 20 µL, 加 ddH₂O 补足至 20 µL。加入 130 µL CT Conversion Reagent solution, 充分混匀。
- 把样品放入 PCR 仪, 并设置以下程序进行反应: :
Step1. 95 °C for 5 min
Step2. 54 °C for 30 min
Step3. 95 °C for 1 min
Step4. 54 °C for 30 min
Step5. 95 °C for 1 min
Step6. 54 °C for 30 min
Step7. 4 °C storage for up to 20 hours
Note: 4°C 保存是可选项。
- 把 DNA Mini Column 装在 2 mL 收集管中。加入 600 µL Binding Buffer 至柱子中。
- 把第二步反应后的样品加入柱子中, 并盖上盖子, 颠倒混匀几次。
- 10,000 x g 离心 30 秒, 倒弃滤液。
- 加入 100 µL Wash Buffer 至柱子中, 10,000 x g 离心 30 秒。
- 加入 200 µL Desulphonation Buffer 至柱子中, 室温 (20-30°C) 放置 15-20 分钟。10,000 x g 离心 30 秒。
- 加入 200 µL Wash Buffer 至柱子中, 10,000 x g 离心 30 秒。再加入 200 µL Wash Buffer 至柱子中, 10,000 x g 离心 30 秒。
- 倒弃滤液, 把柱子装回收集管。12,000 x g 离心 2 分钟。
- 将柱子装在新的 1.5 mL 离心管中。加入 20 µL Elution Buffer 至柱子的膜中央, 放置 3 分钟, 12,000 x g 离心 1 分钟。
- 弃去柱子, 把 DNA 保存于 -20°C。