

# 甲基化检测样本前处理试剂盒（磁珠法）

使用说明书（版本号：Ver.1.1.0）

## 产品特点

- ◇ 直接从血液、组织或细胞中对 DNA 进行高通量、完全的亚硫酸氢盐转化。
- ◇ 兼容小样本输入少至 10 个细胞或 50 pg DNA；非常适合 FFPE 和 LCM 衍生样本。
- ◇ 高通量（96 孔磁珠法）、自动脱硫和回收亚硫酸氢盐处理过的 DNA。

产品货号：

JSR545（1x96次反应 4x96次反应 8x96次反应）



扫描二维码了解更多产品信息

# 目录Contents

<b>产品组份</b>	<b>1</b>
<b>注意事项</b>	<b>1</b>
<b>甲基化简介</b>	<b>2</b>
<b>产品描述</b>	<b>3</b>
<b>技术简介</b>	<b>4</b>
<b>缓冲液的制备</b>	<b>5</b>
<b>实验流程</b>	<b>5</b>
<b>第 I 节：用蛋白酶K消化样品</b>	<b>6</b>
<b>第 II 节：亚硫酸氢盐的转化和DNA纯化</b>	<b>6</b>
<b>附录</b>	<b>7</b>
<b>FAQ常见问题及解决方法</b>	<b>10</b>
<b>其他产品订购信息</b>	<b>11</b>
<b>组件查询</b>	<b>12</b>

## 产品组份

试剂盒组成	1x96次	4x96次	8x96次	保存
蛋白酶 K 溶液 (20mg/ml)	1.2ml	2 x 1.2ml	4 x 1.2ml	-20°C
消化缓冲液 (2x)	15 ml	2 x 15 ml	4 x 15 ml	室温
亚硫酸氢盐干粉	1瓶	4瓶	8瓶	室温
稀释缓冲液	7 ml	2 x 7 ml	4 x 7 ml	室温
增溶缓冲液	18 ml	2 x 18 ml	4 x 18 ml	室温
反应缓冲液	4 ml	2 x 4 ml	4 x 4 ml	室温
结合液	70 ml	250 ml	2 x 250 ml	室温
洗涤液	36 ml	4 x 36 ml	8 x 36 ml	室温
脱硫液	40 ml	80 ml	2 x 80 ml	室温
洗脱液	10 ml	20 ml	40 ml	室温
磁珠	4 ml	8 ml	16 ml	室温
96孔PCR纯化板+盖板膜	1块	4块	8块	室温
96孔收集纯化板	2块	6块	10块	室温
96孔U底洗脱纯化板	1块	4块	8块	室温

## 注意事项

1. 筒石生物™产品仅供研究使用，并应仅供专业人员操作。本试剂盒中包含的一些试剂是刺激物。
2. 请戴好防护手套和护眼用品。遵循您的研究机构或设施制定的安全准则和规则。
3. 售出后一年内产品可以质保。试剂盒已经过大量的常规检测来保证其可操作性。
4. 每瓶亚硫酸氢盐干粉加入 7.9 ml 增溶缓冲液和 3 ml 稀释缓冲液 混匀，然后在使用前加入 1.6ml 反应缓冲液。
5. 使用前在 36 ml 洗涤液中加入 144 ml 95-100% 的乙醇。
6. 在处理过程中，另外提供两个收集板作为转换板的支架。

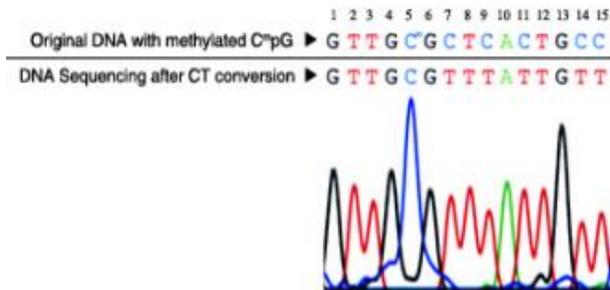
## DNA甲基化简介

胞嘧啶甲基化是一种自然发生的碱基修饰，在原核生物和真核生物中，包括通过甲基转移酶到胞嘧啶嘧啶环的第五碳位(1)。在原核生物中，DNA甲基化提供了一种保护宿主DNA不被旨在消除外来DNA的限制性内切酶消化的方法。高等真核生物的DNA甲基化在基因表达的调控/控制中发挥作用(2)。

大多数哺乳动物的DNA甲基化发生在5-CpG-3二核苷酸，尽管也存在其他模式。哺乳动物基因组中大约80%的5'-CpG-3'二核苷酸被发现是甲基化的，而剩余的20%中的大部分是在启动子内或基因的第一外显子中。已经证明，异常的DNA甲基化在癌症中是一种普遍存在的现象，可能是肿瘤发生过程中发生的最早的变化之一(3)。DNA甲基化也被证明在基因印迹、胚胎发育、x染色体基因沉默和细胞周期调控中起着核心作用。

有效和准确地检测和量化DNA甲基化的能力已经成为癌症、基因表达、遗传疾病和生物学中许多其他重要方面的研究至关重要。迄今为止，已经开发了许多方法来检测/量化DNA甲基化，包括：高性能毛细管电泳(4)和甲基化敏感的任意引物PCR (5)。然而，目前最常用的技术仍然依赖于亚硫酸氢盐转化(6)。

用亚硫酸氢盐处理DNA可将非甲基化胞嘧啶转化为尿嘧啶，甲基化胞嘧啶保持不变。一旦转化，DNA的甲基化情况可以通过使用所需的下游应用来确定。对于单位点分析和感兴趣的区域通常在亚硫酸氢盐转化（即亚硫酸氢盐PCR）后进行扩增，然后测序或处理进行焦磷酸测序，甲基化检测的最新进展也允许使用基于阵列的方法、简化亚硫酸氢盐测序（RRBS）和全基因组甲基化测序(7)等技术来研究全基因组甲基化。



亚硫酸氢盐处理后的DNA测序结果。使用DNA甲基化试剂盒处理具有甲基化C核苷酸位置#5的DNA。回收的DNA经PCR扩增后直接测序。位置#5处的甲基化胞嘧啶保持完整，而位置#7,9,11,14和15处的未甲基化胞嘧啶在亚硫酸氢盐处理后完全转化为尿嘧啶(PCR后作为胸腺嘧啶检测)。

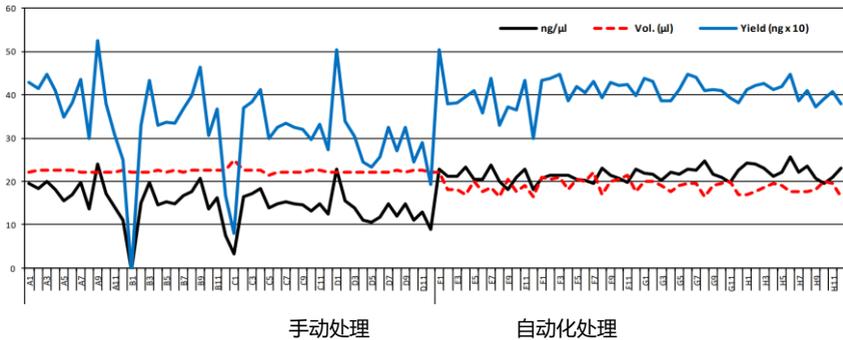
参考文献

- 1.Adams RL. Bioessays. 1995; 17(2): 139-145.
- 2.Costello JF, Plass CJ. Med. Genet. 2001; 38(5): 285-303.
- 3.Stirzaker C. Cancer Res. 1997; 57(11): 2229-2237.

4. Fraga MF, et al. Electrophoresis. 2000; 21(14): 2990-2994.
5. Gonzalgo ML. Cancer Res. 1997; 57(4): 594-599.
6. Frommer M. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1992; 89(5): 1827-1831.
7. Rakyant VK, et al. Nat. Rev. 2011, 12(8): 529-541.

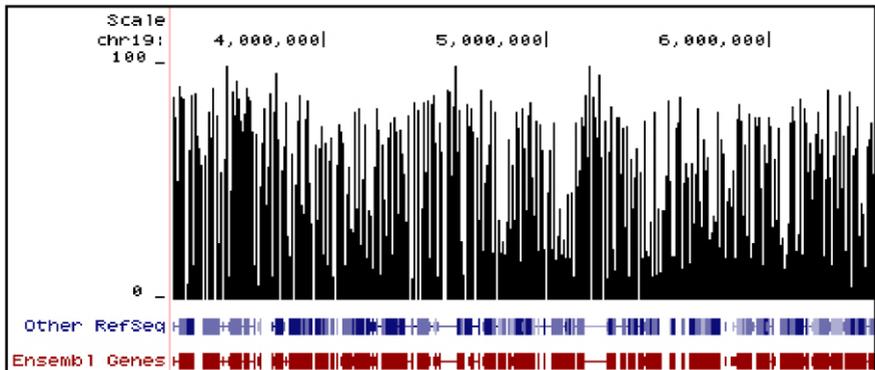
## 产品描述

甲基化检测样本前处理试剂盒(磁珠法) 直接从血液、组织或细胞中对 DNA 进行高通量、完全的亚硫酸氢盐转化，而不需要进行DNA的提取。该试剂盒可以从少量样品中直接将亚硫酸氢盐转化DNA，样本输入量少至10个细胞或50pg DNA。通过磁珠法可以实现高通量的甲基化分析。试剂盒旨在最大限度地减少模板降解和转化过程中DNA的损失，并提供未甲基化的完全转化胞嘧啶。回收的DNA是下游PCR、NGS、甲基化相关检测的理想选择。



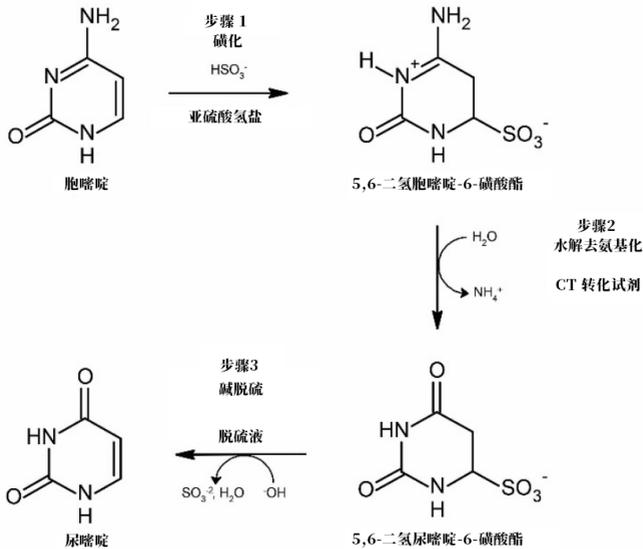
手动处理与自动处理的比较。数据显示浓度、体积以及DNA样品在96孔板上的总产量。

一半的样本 (A-D行) 为手动处理。另一半的样本 (E-H行) 使用Tecan –Freedom E平台和专用脚本进行“自动化”处理。



甲基化图 (RRBS)。数据显示在小鼠DNA中单个CpG位点甲基化的相对百分比。甲基化百分比显示在小鼠的~3Mb区域19号染色体。

使用小鼠制备亚硫酸测序文库之前用到 基因组DNA纯化回收试剂盒 (TD410)和 甲基化检测样本前处理试剂盒(JSR520)。



二硫化物转化概述。步骤1和2发生在亚硫酸氢盐转化过程中，而步骤3是当DNA与纯化柱结合时进行。为了使反应进行到DNA必须完全变性。

## 技术简介:

- ✧ 起始材料: 细胞: 与来自固体组织、组织培养、全血、血沉棕黄层、活组织检查、LCM (激光捕获显微解剖) 和FFPE样本等兼容。为了获得最佳结果, 细胞数应为  $1 \times 10^3$ - $8 \times 10^4$  个细胞。
- ✧ 纯化DNA: 含有50 pg-2μg DNA的样品。对于最佳结果是, 输入DNA的数量应为200至500ng。
- ✧ 转化效率: >99.5%的非甲基化C残留物转化为U; >99.5%的甲基化胞嘧啶受到保护。
- ✧ 所需的附加设备: 磁力架, 加热96孔板等元件

## 缓冲液的制备:

### A. 蛋白酶 K 的制备

如果试剂盒配套的是冻干蛋白酶 K 干粉: 在干粉中加入 1040 μl 蛋白酶 K 储存缓冲液。等待完全溶解。长期存储建议在  $-20^\circ\text{C}$  温度下, 可保存12个月。

如果试剂盒配套的是已经溶解好的蛋白酶 K 溶液 (20mg/ml), 可以直接使用, 并且室温可以放置12个月。

### B. CT 转换试剂的制备

本试剂盒中提供的亚硫酸氢盐干粉是固体混合物, 必须在首次使用前配制。

必须在首次使用前配制。制备方法如下：

1. 在一瓶亚硫酸氢盐干粉中加入 7.9 ml 增殖缓冲液 和 3 ml 稀释缓冲液。
2. 在室温下混合，间歇涡旋或振荡 15 分钟。
3. 加入 1.6 ml 反应缓冲液，再混合 4 分钟。

注意：CT 转换试剂中出现微量未溶解试剂是正常现象。

每瓶 CT 转换试剂可用于 96 次单独的 DNA 处理。

储存：CT 转换试剂对光敏感，因此应尽量减少其在光线下的暴露。

为获得最佳效果，CT 转换试剂应在配制后立即使用。

如果不立即使用，CT 转试剂溶液可在室温下保存过夜，在 4°C 下存放一周，或 -20°C 下存放一个月。

储存的 CT 转换溶液在使用前必须加温至 37°C，然后涡旋。

### C. 洗涤液的制备

洗涤液在使用之前一定要配好，添加好乙醇后在试剂瓶上做好标记！

在 36 ml 浓缩 洗涤液 中加入 144 ml 100%乙醇。

试用装需要按照瓶子上标注的量来添加。

## 实验流程

血液、组织、细胞或纯化后的DNA都可以使用甲基化检测样本前处理试剂盒(磁珠法)。

如果样品是纯化后的DNA，可以直接进行第II节：亚硫酸氢盐的转化和DNA的纯化。

如果使用血液、组织或细胞，请参见附录I：样本前处理的具体建议（例如FFPE和LCM样本）。

注意：为获得最佳结果，每次处理的细胞数应在  $1 \times 10^3$ - $8 \times 10^4$  之间,但细胞数量可以在  $10$ - $10^5$  之间使用的细胞数超过推荐上限可能会导致 DNA 的亚硫酸氢盐转化不完全。

## 第 I 节：用蛋白酶K消化样品

根据细胞数量和/或组织类型，应使用程序A或B（下文）在PCR板上（提供）进行消化。

消化是可扩展的，以方便多个样本或增加操作的方便性。

该试剂盒包含足够数量的试剂，使蛋白酶K的总消化体积增加5倍。

1.A.为含有多达2倍的样品设置以下消化程序  $10^3$  细胞

10 $\mu$ l	消化缓冲液 (2X)
最多9 $\mu$ l的样品	样品( $\leq 2 \times 10^3$ ) 细胞
1 $\mu$ l	蛋白酶K
X $\mu$ l	H <sub>2</sub> O
<hr/>	
20 $\mu$ l	总体积

重要！“难以消化”的样品在消化后会形成可见的碎片。消化后会形成肉眼可见的碎屑。这些样品应按照程序 B 进行处理

B.设置以下消化系统的样品含有多达  $1 \times 10^5$  细胞这也应该包括所有“难以消化”的样品，形成碎片或沉淀后的蛋白酶K消化-见附录I

13 $\mu$ l	消化缓冲液 (2X)
最多12 $\mu$ l的样品	样品( $\leq 2 \times 10^5$ ) 细胞
1 $\mu$ l	蛋白酶K
X $\mu$ l	H <sub>2</sub> O
<hr/>	
26 $\mu$ l	总体积

2.用盖膜密封转换板，并将样品在50°C下孵育20分钟。

注：对于FFPE、LCM等“固定”组织样本，将培养时间调整至4小时（见附录I）。

3.如果遵循程序A，请直接进入第II节。

如果按照步骤B，将转换板彻底混合，然后安装在收集板上，以1000xgPierce离心10分钟或去除膜，然后将20 $\mu$ l的上清液转移到新的PCR板上，继续进行第II节。

## 第II节：亚硫酸氢盐的转化和DNA的纯化

1.将130 $\mu$ l已经配置好的CT转化试剂加入到20 $\mu$ l的DNA样本中。通过上下移液来混合样品。

注：如果DNA的体积小于20 $\mu$ l，则用水进行补偿。

注：如果使用程序A，则可通过刺穿盖膜或小心取下盖膜将CT转换试剂直接添加到PCR板中的样品中。

使用新的盖膜重新密封转换板。

2.用所提供的盖板膜密封PCR底板。将PCR板转移到热循环仪中，并执行以下步骤：

(1) 98°C，8分钟

(2) 64°C，3.5小时

(3) 4°C存储时间最多20小时

注意：4°C储存步骤是可选的

3.将平板加热模块预热至55°C。

注：或者，根据元件达到温度所需的时间，可在步骤10之前的任何时间进行预热。

4.在收集板的每个孔中加入600 $\mu$ l结合液和10 $\mu$ l磁珠。

注：磁珠沉淀很快，在添加到收集板时，请确保磁珠是悬浮在容器中的。

5.将样品从PCR板转移到含有结合液和磁珠的收集板中。通过上下移液混合3-6次，如果有条件，以1,300-1,500 rpm的转速摇动收集板30秒钟（如 Tecan - Te-Shake™）。

注：可通过刺穿或移除PCR板上的盖膜来完成转移。如果将收集板用作PCR板的支架，则有必要使用盖膜上的卡扣将板固定在一起，以防止转换板抬起。

6.将收集板在室温下放置5分钟，然后将收集板转移到磁力架上再放置5分钟，直到磁珠沉淀。丢弃上清液。

注意：有些珠子会附着在孔边。慢慢移除上清液，让这些珠子在液面降低时，珠子会被拉到磁铁上。

7.将收集板从磁力架上取下，此步骤之后每次添加缓冲液前都需要操作。加入400  $\mu$ l的洗涤液。用移液枪上下吹打或以1,300-1,500 rpm的转速摇动收集板30秒钟，重新悬浮磁珠。

将收集板放在磁力架上3分钟，直至磁珠沉淀。丢弃上清液。

8.将200  $\mu$ l的脱硫液加到磁珠上。用移液枪上下吹打或摇动平板，重悬磁珠30秒。

让收集板在室温(20°C-30°C) 放置 15-20 分钟。孵育结束后, 在磁力架上放置 3 分钟, 直至磁珠沉淀。取出并丢弃上清液。

注: 总孵育时间应考虑处理/再悬浮的时间。必要时调整时间, 以确保样品在 脱硫液中停留超过 20-25 分钟。

9. 向磁珠中加入 400  $\mu$ l 的 洗涤液。用移液枪上下吹打或摇动收集板, 重悬磁珠 30 秒。然后将收集板放置在磁力架上放置 3 分钟, 直至磁珠沉淀。取出并丢弃上清液。重复此清洗步骤。

注意: 最后一次洗涤后, 尽可能多地去除缓冲液, 以帮助磁珠尽快干燥。

10. 将收集板转移到 55°C 的加热模块中 20-30 分钟, 使磁珠干燥并去除残留的 洗涤液。

注意: 磁珠的外观会从未干透时的黑色光泽变为完全干燥后的暗棕色。

11. 在干燥的磁珠上直接加入 25  $\mu$ l 的 洗脱液, 然后用移液枪上下吹打或摇动收集板 30 秒以重新悬浮磁珠。在 55°C 加热 洗脱液 4 分钟, 然后将收集板转移到磁力架上 1 分钟, 直至珠子沉淀。取出上清液并转移到干净的洗脱板上。

注: 如果磁珠随洗脱液一起移出, 用移液枪缓慢上下移动一两次, 可将磁珠拉到磁力架上。

注: 如果实验需要, 也可使用水或 TE (pH  $\geq$  6.0) 进行洗脱。

DNA 可立即用于分析, 也可在 -20°C 或更低温度下保存, 以备日后使用。

如需长期保存, 请在 -70°C 或更低温度下保存。

我们建议每次 PCR 使用 1-4  $\mu$ l 的洗脱 DNA, 但必要时也可使用多达 25  $\mu$ l 的洗脱 DNA。

根据实验的要求, 洗脱体积可以为 > 25  $\mu$ l, 但洗脱体积越小, DNA 浓度越高。

## 附录

附录 I : 对特定细胞和组织的建议

以下指南是在对特定细胞和组织来源进行采样时, 可参考的操作步骤。

最重要的是, 用于亚硫酸氢盐处理 (第 II 节) 的 DNA 量应为  $1 \times 10^3 - 8 \times 10^4$  个细胞。

但也可使用少至 10 个细胞或多至  $10^5$  个细胞的 DNA。

注意: 使用的细胞数量超过建议的最大, 可能会导致 DNA 的亚硫酸氢盐转化不完全。

重要! “难以消化”的样品在消化后形成可见的碎片, 应按照消化程序 B 进行处理。这可能发生在大体积或对蛋白酶 K 消化有抵抗力的样本中, 包括: 结缔组织 (如软骨)、脂肪组织、一些固定组织等。如果碎片不能通过离心去除, 它可能会干扰亚硫酸氢盐转化过程。

- ✧ 全血: 每次蛋白酶 K 消化使用 0.5  $\mu$ l 全血 (程序 A 或 B), 然而在处理重复样本或为了方便样本操作时, 可以调整蛋白酶 K 消化的体积。例如, 消化过程 A 将样品体积增加 5 倍: 在 50  $\mu$ l 消化液中加入 2.5  $\mu$ l 血液, 42.5  $\mu$ l H<sub>2</sub>O 和 5  $\mu$ l 蛋白酶 K。
- ✧ 固体组织 (新鲜或冷冻): 每一次蛋白酶 K 消化最多使用 0.1 mg 或 0.1  $\mu$ l 组织 (程序 A 或 B)。然而, 蛋白酶 K 消化的体积可以在处理复制样品或方便的样品操作时调整, 例如, 增加样品体积 5 倍的消化程序 B: 添加 0.5 mg 或 0.5  $\mu$ l 组织到 65  $\mu$ l m 消化缓冲液, 59.5  $\mu$ l H<sub>2</sub>O, 和 5  $\mu$ l 蛋白酶 K。
- ✧ 培养的细胞和其他含细胞的液体: 两者都有  
单层细胞和悬浮细胞可以直接从培养容器中处理, 或在收获后处理。少量的培养基不会对培养过程产生不利影响, 但应保持在最低情况下, 在蛋白酶 K 消化之前, 细胞应悬浮在 PBS 或 Tris 缓冲溶液中。其他含细胞的液体 (例如, 那些来自 FACS 或血沉棕黄层) 也可以直接用作样品来源。如果液体的组成没有 “定义”, 则通过离心使细胞成球, 并去除上清液。细胞应在 PBS 或 Tris 缓冲溶液中重悬。一般来说, 体液中的细胞可以直接用于蛋白酶 K 的消化。

- ◇ FFPE (福尔马林固定石蜡包埋) 和其他“固定”组织: 石蜡包埋的组织在使用前必须进行脱蜡处理。这可以根据传统的二苯乙醇去除来实现。对于FFPE和任何其他固定组织样本, 蛋白酶K的消化必须从20分钟延长到4小时。
- ◇ LCM (激光捕获微解剖): 来自LCM的组织样本应采用PBS或Tris缓冲溶液。对于LCM和任何其他固定组织样本, 蛋白酶K的消化必须从20分钟延长到4小时。

## 附录II: 亚硫酸氢盐转化和PCR优化

### 1. 双链DNA模板的亚硫酸氢盐转化。

下面说明了在亚硫酸氢盐转化过程中DNA模板发生的情况。

模板:

A: 5' -GACCGTTCCAGGTCAGGCAGTGCGCT-3'  
 B: 3' -CTGGCAAGGTCCAGGTCGTCACGCGA-5'

亚硫酸氢盐转化:

A: 5' -GATCGTTTTAGGTTAGTAGTGCGTT-3'  
 B: 3' -TTGGCAAGGTTTAGTTGTTATGCGA-5'

注意: 甲基化的“C”在例子中有下划线。

注: 在亚硫酸氢盐转化后, 这些链不再是互补的。

### 2. PCR引物设计。

亚硫酸氢盐转化DNA的扩增一般需要引物26~32个碱基。一般来说, 所有Cs在引物设计中应被视为Ts, 除非它们是在CpG环境下。请参考下面的示例。

亚硫酸氢盐转化: A: 5' -GATCGTTTTAGGTTAGTAGTGCGTT-3'

引物: 反向: 3' -ATCATCACRCAA-5' R= G/A  
 前进: 5' -GATYGTTTTAGGT-3' Y= C/T

注: 只有一条链(A)被给定的引物组扩增。只有反向引物才能与转化的DNA结合, 正向引物才会与反向引物产生的链结合。

引物如果含有甲基化状态不确定的CpG二核苷酸, 则可以使用与C和T (或G和A) 的混合碱基。

通常, 每个底物不应该有超过一个混合位置, 而且应该是位于引物的5'端。不建议在底物的3'端设置混合碱基。

### 3. 亚硫酸氢盐转化所需的DNA量

亚硫酸氢盐处理和随后的PCR扩增所需的人类或小鼠基因组DNA的最低量为100 pg。每次亚硫酸氢盐处理的DNA的最佳量为200至500 ng。尽管最多可以处理2μg的DNA, 但应注意的是, 高输入量的DNA可能会导致某些GC富集区域的亚硫酸氢盐转化不完全。

### 4. PCR条件。

通常, 亚硫酸氢盐转化的DNA的成功PCR扩增需要35到40个循环。最佳扩增子大小应在150-300bp之间; 然而, 通过优化PCR条件可以产生更大的扩增子 (高达1kb)。退火温度在55-60°C之间通常效果良好。

由于大多数非甲基化胞嘧啶残基转化为尿嘧啶，亚硫酸氢盐处理的DNA通常富含AT且GC组成较低。由于其富含AT的性质，非特异性PCR扩增在亚硫酸氢盐处理的DNA中相对常见。强烈建议使用“热启动”聚合酶的聚合酶链式反应扩增亚硫酸盐处理的DNA。

注：ZymoTaq™是一种“热启动”DNA聚合酶，专门设计用于亚硫酸氢盐处理后的DNA的扩增。

#### 5. 定量亚硫酸氢盐处理过的DNA。

在基因组DNA经过亚硫酸氢盐处理后，由于非甲基化胞嘧啶残基的胞嘧啶残基转化为尿嘧啶，回收后的DNA通常富含A、U和T，在室温下是单链，具有有限的非特异性碱基配对。在260 nm处的吸收系数与RNA相似。当测定回收的亚硫酸氢盐处理的DNA浓度时，使用 $A_{260} = 1.0$ 的值为 $40\mu\text{g/ml}$ 。

## FAQ常见问题及解决方法

Q: 问题	A: 可能的原因和建议的解决方案
DNA在转化之前是否应该溶解在TE、水或其他缓冲液中呢？	水、TE或改性TE缓冲液可用于溶解DNA，且不干扰转化过程。
推荐哪种Taq聚合酶(s)用于PCR转化DNA的扩增？	我们推荐一种“热启动”DNA聚合酶（例如，ZymoTaq™DNA聚合酶）。
为什么甲基化检测样本前处理试剂盒有两个不同的货号？	这两种不同的目录号用于区分试剂盒中包含的装订板。深孔和浅孔结合板可容纳大多数转子和微孔板载体。下面是两个装订板的比较。

																				
	<table border="1"> <tr> <td>名称</td> <td>2号柱96孔板</td> <td>1号柱子96板</td> </tr> <tr> <td>规格</td> <td>浅孔</td> <td>深孔</td> </tr> <tr> <td>孔板高度</td> <td>19mm(0.75英寸)</td> <td>35mm(1.38英寸)</td> </tr> <tr> <td>绑定板/收集板组件</td> <td>43mm(1.69英寸)</td> <td>60mm(2.36英寸)</td> </tr> <tr> <td>核酸载量/洗脱量</td> <td>5 µg/30 µl</td> <td>5 µg/15 µl</td> </tr> <tr> <td>成品货号</td> <td>TD5022</td> <td>TD5023</td> </tr> </table>	名称	2号柱96孔板	1号柱子96板	规格	浅孔	深孔	孔板高度	19mm(0.75英寸)	35mm(1.38英寸)	绑定板/收集板组件	43mm(1.69英寸)	60mm(2.36英寸)	核酸载量/洗脱量	5 µg/30 µl	5 µg/15 µl	成品货号	TD5022	TD5023	
名称	2号柱96孔板	1号柱子96板																		
规格	浅孔	深孔																		
孔板高度	19mm(0.75英寸)	35mm(1.38英寸)																		
绑定板/收集板组件	43mm(1.69英寸)	60mm(2.36英寸)																		
核酸载量/洗脱量	5 µg/30 µl	5 µg/15 µl																		
成品货号	TD5022	TD5023																		
亚硫酸氢盐转化后DNA的特征	碎片化 <ul style="list-style-type: none"> <li>•基因组DNA在50 ~ 1500 bp范围大小</li> <li>•片段化的DNA投入 (FFPE、cfDNA、消化的DNA) 回收率较低</li> </ul> 类似于RNA <ul style="list-style-type: none"> <li>•包含尿嘧啶 (U)</li> <li>•单链</li> </ul>																			
影响转化效率的因素有哪些?	1. CT 反应液体应在反应前现准备 •不应长时间暴露在光/空气中 2. 使用的 DNA 过多·不超过 2ug 3. 植物或其他样品应使用内标 4. 环状DNA (质粒、mtDNA) •在转换之前必须线性化																			

## 其他产品订购信息

DNA/RNA 保护剂		
TR110	DNA/RNA Shield-固体样品保护剂	瓶
TR120	DNA/RNA Shield-液体样品保护剂	瓶
TS001-TS010	各类样品的采样套装 (含 RNA 保护剂)	套
核酸提取		
TD476/TB476	血清/血浆 cfDNA 提取试剂盒 (离心柱) / (磁珠法)	50 次
TD601/TB601	土壤/粪便 DNA 提取试剂盒 (离心柱) / (磁珠法)	50 次
TD361	尿液 DNA 提取试剂盒	50 次
TD468	通用(血液/组织) DNA 提取试剂	50 次
TR367	FFPE 样品 DNA 提取试剂盒	50 次
TR108	FFPE 样本 RNA 提取试剂盒	50 次
TR109	FFPE 样本 DNA/RNA 提取试剂盒	50 次

甲基化检测样本前处理试剂盒				
货号, 规格之间的区别				
	传统版	经典版	样品直接转化版	快速版
科研货号 (单柱法)	JSR501	JSR505	JSR520	JSR530
科研货号 (96孔柱法)	JSR522 ; JSR523	JSR507 ; JSR508	JSR522 ; JSR523	JSR532 ; JSR533
科研货号 (磁珠法)	JSR540 ; JSR541	JSR542 ; JSR543	JSR544 ; JSR545	JSR546 ; JSR547
医疗货号 (单柱法)	JSM501	JSM505	JSM520	JSM530
性能差异				
转化率	99%	99%	99.5%	99.5%
处理时间	12-16h	2.5h	3.5h	1h
投入量	500pg- 2ug DNA	500pg- 2ug DNA	DNA ( ≥ 50 pg), cells ( ≥ 10) blood, tiss ue, FFPE	100pg-2ug DNA

## 组件查询

组件名称	货号	规格	储存条件
蛋白酶 K 溶液 (20mg/ml)	TD3001-2-1.2	1.2ml	-20°C
消化缓冲液 (2x)	TD5020-9	15 ml	室温
亚硫酸氢盐干粉	TD5003-1	1瓶	室温
稀释缓冲液	TD5005-2	7ml	室温
增溶缓冲液	TD5020-7	18 ml	室温
反应缓冲液	TD5020-8	4 ml	室温
结合液	TD5005-3-70	70 ml	室温
	TD5006-3-250	250ml	
洗涤液 (未添加乙醇)	TD5001-4	36 ml	室温

脱硫液	TD5030-5-40	40ml	室温
	TD5030-5-80	80ml	
洗脱液	TD5001-6-10	10ml	室温
	TD5001-6-20	20ml	
	TD5001-6-40	40ml	
磁珠	TD4100-5-4	4ml	室温
	TD4100-5-8	8ml	
	TD4100-5-16	16ml	
96 孔 PCR 纯化板+盖板膜	TC2005	2块/包	室温
96 孔收集纯化板	TC2002	2块/包	室温
96 孔 U 底洗脱纯化板	TC2003	2块/包	室温