

BeyoMag™磁珠法DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒

产品编号	产品名称	包装
D0069S	BeyoMag™磁珠法DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒	96次
D0069M	BeyoMag™磁珠法DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒	4×96次

产品简介:

- 碧云天生产的BeyoMag™磁珠法DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒(BeyoMag™ DNA Bisulfite Conversion Kit with Magnetic Beads), 也称磁珠法DNA亚硫酸氢盐修饰试剂盒、磁珠法DNA重亚硫酸盐转化试剂盒、磁珠法DNA甲基化转化试剂盒或磁珠法DNA甲基化试剂盒, 是一种操作简单、快速、高效、高通量的基于亚硫酸氢盐转化DNA中胞嘧啶(cytosine, C)并最终转变为U并使用磁珠法对其进行纯化回收的试剂盒。DNA经本试剂盒转化处理后未甲基化的C转化为U, 而5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)不会转化, 这样就可以用于后续的PCR或高通量测序检测, 以确定特定位点的C是否发生了甲基化修饰。
- 本试剂盒非常适合用于高通量的96孔的操作, 也适用于常规的单管操作。为方便96孔的操作, 本试剂盒配套提供了96孔深孔板。
- DNA甲基化是一种重要的表观遗传修饰方式, 主要是基因组DNA上的胞嘧啶第5位碳原子和甲基间的共价结合, 胞嘧啶由此被修饰为5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)[1]。在真核生物基因组DNA中, 5-甲基胞嘧啶是最普遍的化学性修饰碱基, 而且CpG双核苷酸是基因组中最主要的甲基化位点[2]。
- DNA甲基化在调控基因表达、维持染色质结构、基因印记、X染色体失活以及胚胎发育等生物学过程中发挥着重大的作用[3], 在衰老与疾病的发生及发展进程中有着深远的影响[4]。目前已证明DNA甲基化与多种疾病存在密切的关系, 如肿瘤、精神疾病、代谢性疾病、自身免疫疾病等[5]。DNA甲基化可作为分子标志物或靶点为疾病精准诊断和治疗提供帮助[4]。
- 亚硫酸氢盐转化法具有高转化率(>99%)和高度可重复性, 是DNA甲基化分析的金标准。使用亚硫酸氢盐处理DNA, 未甲基化的胞嘧啶C通过一系列的磺化、脱氨、脱盐和脱磺化反应, 最终将未甲基化的胞嘧啶C转化为尿嘧啶U, 而甲基化的胞嘧啶C在转化过程中保持不变, 反应原理如图1所示。

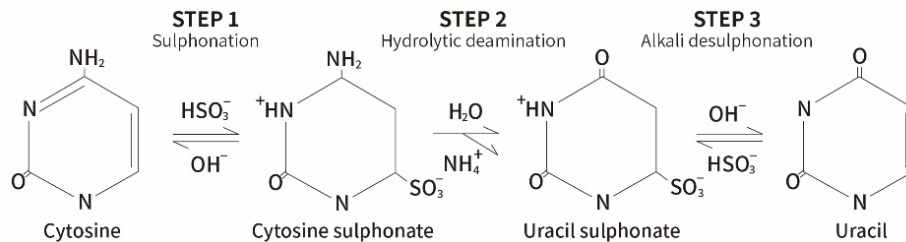


图1. DNA中胞嘧啶(Cytosine)发生亚硫酸氢盐转化的原理示意图。

- 本试剂盒采用热变性与亚硫酸氢盐转化相结合的方式处理DNA样本, 随后使用磁珠对样本进行纯化, 将脱盐和脱磺化反应整合在磁珠纯化过程中, 使实验流程更便捷, 不需要离心, 操作更简单, 适用于自动化高通量平台, 3小时内即可完成。本试剂盒操作流程如图2所示。

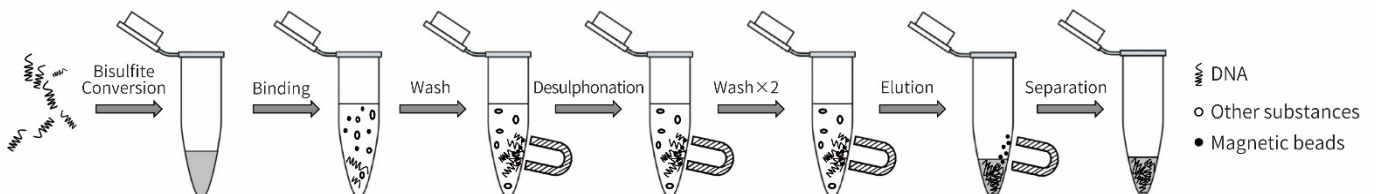


图2. 碧云天BeyoMag™磁珠法DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒(D0069S)操作流程示意图。

- 本试剂盒处理后的甲基化DNA可用于各种下游甲基化分析, 如甲基化特异性PCR (Methylation-specific PCR, MSP)、亚硫酸氢盐修饰后PCR扩增产物测序(Bisulfite sequencing PCR, BSP)、高通量测序、限制性内切酶分析等。
- 本试剂盒转化率高、回收率好。DNA样本起始量的适用范围为10ng-2 μg , 0.5-2 μg 效果更佳。

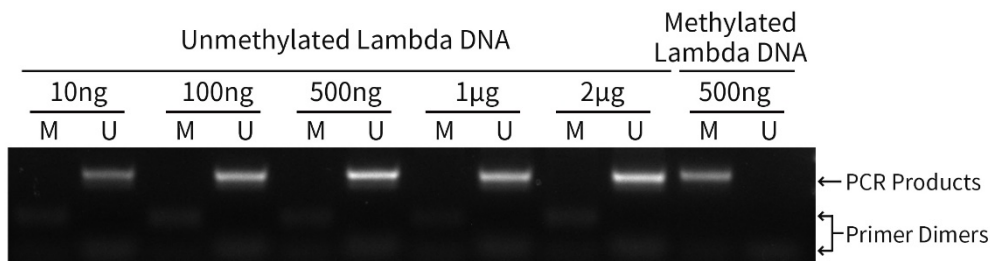


图3. 碧云天BeyoMag™磁珠法DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒(D0069S)转化和回收的效果图。分别使用10ng、100ng、500ng、1µg和2µg未甲基化的lambda DNA, 或者500ng甲基化的lambda DNA作为样品, 按照本试剂盒的使用说明对样本进行亚硫酸氢盐转化和磁珠法纯化回收处理, 甲基化特异性PCR(MSP)技术验证确认本产品具有高转化效率。U代表使用非甲基化特异性引物进行PCR扩增(上游引物: 5'-ATGTTTCAAATGTTTGTGTAATGT-3', 下游引物: 5'-TATTATTTATTTCCCTAAACACAAT-3'), 扩增产物长度为139bp; M代表使用甲基化特异性引物进行PCR扩增(上游引物: 5'-TACGTTTCAAACGTTTGTGTAAC-3', 下游引物: 5'-AATATTTATTTCCCTAAACGCG-3'), 扩增产物长度为135bp。实际检测结果会因样品、检测仪器等的不同而存在差异, 图中检测结果仅供参考。

➢ 本试剂盒的小包装和中包装分别可用于96个和4×96个DNA样品的亚硫酸氢盐转化及纯化回收, 适用于高通量的DNA亚硫酸氢盐转化实验。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D0069S-1	转化液粉末	10管
D0069S-2	溶液I (保护液)	1.1ml
D0069S-3	溶液II (反应液)	18ml
D0069S-4	溶液III (洗涤液, 首次使用前加入160ml无水乙醇)	40ml
D0069S-5	溶液IV(洗脱液)	3ml
D0069S-6	BeyoMag™磁珠	30ml
D0069S-7	深孔板	1块
-	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D0069M-1	转化液粉末	40管
D0069M-2	溶液I (保护液)	4.2ml
D0069M-3	溶液II (反应液)	72ml
D0069M-4	溶液III (洗涤液, 首次使用前加入320ml无水乙醇)	2×80ml
D0069M-5	溶液IV(洗脱液)	12ml
D0069M-6	BeyoMag™磁珠	120ml
D0069M-7	深孔板	4块
-	说明书	1份

保存条件:

室温保存, 3个月有效。BeyoMag™磁珠4°C保存, 一年有效; 其余室温保存至少一年有效。

注意事项:

- 本试剂盒最终使用磁珠对DNA样本进行纯化回收, 须自备磁分离架。如果使用试剂盒提供的深孔板进行96个样品或较多样品的操作, 须自备适当的96孔磁分离架。推荐使用碧云天的FMS081 BeyoMag™磁分离架(96孔, PCR板, 蓝)。如需更多96孔深孔板以方便操作, 推荐选购FPT021 96孔深孔板(U形底, 1.2ml/孔)。本试剂盒也可以使用普通离心管进行单管的转化和磁性分离操作的。
- 转化液建议即用即配, 每管转化液粉末溶解后可进行10次实验。未用完的转化液可室温或4°C保存一天, 或者-20°C保存一个月。
- 磁珠悬液在静置后会发生沉降, 使用前一定要涡旋震荡或颠倒数次至充分混匀。
- 用户需自备无水乙醇, 溶液IV (洗涤液)第一次使用前需加160ml无水乙醇并混匀, 后续注意拧紧瓶盖并在瓶上做好标记。
- 转化液粉末和溶液I (保护液)对人体有害或有刺激性, 操作时请小心, 并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 转化液的配制

取1管转化液粉末加入100µl溶液I (保护液)和1.4ml溶液II (反应液), 室温涡旋或上下颠倒至转化液粉末完全溶解。每管转化液可用于10次实验, 用户可根据反应数量的需求进行配制。

注：未用完的转化液可室温或4°C保存一天，或者-20°C保存一个月。

2. 转化反应

a. 取10ng-2μg样本DNA加入PCR管/板孔中，体积不可超过20μl。不足20μl的部分，请用超纯水补足。

注：优先推荐的用量为0.5-2μg，通常样品量大，操作会比较容易，后续的检测也会比较方便；但如果样品量确实非常少，可以使用低至10-500ng的样品量，但后续的检测效果等会有所下降。超纯水推荐使用BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)。

b. 向PCR管/板孔中加入130μl配制的转化液，振荡或吹打混匀。

c. 约1,000-10,000×g离心5秒，将管/板孔壁上的混合液离心至管底。

d. 将PCR管/板置于PCR仪中，按照下表进行反应。

Step	Temperature	Time	Cycles
Initial	95°C	3min	1
Denaturation	95°C	30sec	12
Conversion	70°C	10min	
Hold	4°C	forever	1

3. 磁珠纯化

a. 如果BeyoMag™磁珠在4°C保存，需要提前平衡至室温。

b. 将转化反应结束的PCR管/板中的150μl转化反应产物转移至对应的深孔板中，加入300μl BeyoMag™磁珠，轻轻震动或摇动混匀。

注：此时也可以转移至1.5ml离心管中进行操作，本说明书后续仅以深孔板为例进行描述，如果使用1.5ml离心管，每管的液体和磁珠的使用量和深孔板每孔的用量相同。

c. 室温静置5-15分钟。注：通常孵育5分钟就会有比较好的结合效果，但如果DNA的初始样品量非常少，例如低于100ng的情况，把孵育时间延长至10-15分钟对于提高结合效果会有所帮助。

d. 将深孔板置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集并且溶液澄清后，弃上清。

注：吸取上清时，请勿碰触到孔底磁珠。

e. 将深孔板从磁力架上取出，每孔加入400μl溶液III(洗涤液)，轻轻吹打混匀磁珠，使其全部悬浮。

注：溶液III第一次使用时请注意加入160ml无水乙醇，并做好标记。

f. 置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集并且溶液澄清后，弃上清。

4. 脱磺反应

a. 按照每20μl溶液II(反应液)加入180μl无水乙醇的比例，配制脱磺反应溶液。可根据实际反应数量适量进行配制。

b. 将深孔板从磁力架上取出，每孔加入200μl脱磺反应溶液，轻轻震动或摇动混匀磁珠，使其全部悬浮于脱磺反应溶液中。

c. 室温静置20分钟。

注：静置时间不能太短，太短会影响脱磺效果；静置时间也不能太久，太久会影响DNA与磁珠的结合。

5. 洗涤

a. 将深孔板置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集并且溶液澄清后，弃上清。

b. 将深孔反应板从磁力架上取出，每孔加入400μl溶液III(洗涤液)，轻轻震动或摇动混匀磁珠使其全部悬浮，室温孵育30秒。

c. 将深孔板置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集并且溶液澄清后，弃上清。

d. 重复步骤b和c一次。

e. 保持深孔板始终处于磁力架上，打开盖子，室温干燥至磁珠表面干燥(约5-10min)。

6. 洗脱

a. 将深孔反应板从磁力架上取出，每孔加入20μl溶液IV(洗脱液)，漩涡振荡以充分混匀。

b. 室温静置3-5分钟。

c. 将深孔反应板短暂低速离心后置于磁力架上，待磁珠完全聚集并且溶液澄清后，小心吸取上清至洁净的PCR板或其它适当容器中，即完成转化产物的纯化回收。

d. 将经转化处理的DNA样本保存于-20°C，长期保存建议放置于-80°C。

参考文献：

1. Razin A and Riggs AD. Science. 1980. 210(4470):604-10.
2. Bird AP. Nature. 1986. 321(6067):209-13.
3. Smith ZD and Meissner A. Nat Rev Genet. 2013. 14(3):204-20.
4. Horvath S and Raj K. Nat Rev Genet. 2018. 19(6):371-384.
5. Dor Y and Cedar H. The Lancet. 2018. 392(10149):777-786.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
D0061	哺乳动物基因组DNA抽提试剂盒	50次

D0063	基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 离心柱式)	50次
D0038-1ml	BeyoMag™ DNA长度分选磁珠	1ml
D0038-5ml	BeyoMag™ DNA长度分选磁珠	5ml
D0041S	BeyoMag™磁珠法PCR/DNA纯化试剂盒	50次
D0041M	BeyoMag™磁珠法PCR/DNA纯化试剂盒	200次
D0068S	DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒	50次
D0068M	DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒	200次
D0069S	BeyoMag™磁珠法DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒	96次
D0069M	BeyoMag™磁珠法DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒	4×96次
R0081-1ml	BeyoMag™ RNA Clean Magnetic Beads (RNA纯化磁珠)	1ml
R0081-5ml	BeyoMag™ RNA Clean Magnetic Beads (RNA纯化磁珠)	5ml
ST876-100ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100ml
ST876-500ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	500ml
FPT021	96孔深孔板(U形底, 1.2ml/孔)	12个/包装
FPT026	96孔深孔板(U形底, 1.8ml/孔)	10个/包装
FMS081	BeyoMag™磁分离架(96孔, PCR板, 蓝)	1个/盒
FMS085	BeyoMag™磁分离架(96孔, 平底板, 蓝)	1个/盒
FMS096	BeyoMag™磁分离架(96孔)	1个/袋

Version 2023.05.11