



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

Human HCT116 DKO Non-Methylated gDNA

产品编号	产品名称	包装
D9102-5μg	Human HCT116 DKO Non-Methylated gDNA	5μg

产品简介:

- 碧云天研发的Human HCT116 DKO Non-Methylated gDNA, 即人HCT116细胞双基因敲除无甲基化基因组DNA, 也称Human HCT116 DKO Low-Methylated gDNA、人HCT116细胞双基因敲除低甲基化基因组DNA、HCT116 DKO Unmethylated gDNA或Human HCT 116 DKO Non-Methylated gDNA, 是从DNMT1^{-/-}/DNMT3B^{-/-}双基因敲除(Double knockout, DKO)的人HCT116细胞中分离纯化的基因组DNA。DNMT1^{-/-}/DNMT3B^{-/-}双基因敲除的HCT116细胞是通过CRISPR-Cas9技术, 对HCT116细胞进行甲基转移酶DNMT1进行了半敲除及DNMT3B进行了全敲除获得的单克隆细胞株, 该细胞中目的基因的敲除已经通过测序验证。本产品具有非常低的甲基化水平, 可以作为多种DNA甲基化分析实验的低甲基化或无甲基化对照。
- 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]。
- 本产品的应用涉及DNA甲基化分析、表观遗传学研究、药物研发等领域, 对于深入理解DNA甲基化的功能和意义具有重要作用。本产品适用于常见的甲基化分析实验, 包括亚硫酸盐测序PCR (Bisulfite-sequencing PCR, BSP)、甲基化特异性PCR (Methylation-specific PCR, MSP)和甲基化敏感限制性内切酶法(Methylation sensitive restriction endonuclease, MSRE)等。推荐搭配碧云天DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒(D0068)及BeyoMag™磁珠法DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒(D0069)等产品使用, 具体请在碧云天网站查询或在本产品网页点击相应产品链接。
- 本产品浓度为100ng/μl, 共50μl。储存液为Tris缓冲液(10mM Tris, pH8.5)。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D9102-5μg	Human HCT116 DKO Non-Methylated gDNA (100ng/μl)	50μl
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 至少两年有效。

注意事项:

- 本产品是从DNMT1^{-/-}/DNMT3B^{-/-}双敲除的人HCT116细胞中分离纯化获得的基因组DNA, 因此对于部分位点可能仍存在一定水平的甲基化。
- 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. 亚硫酸氢盐转化处理:

冰上解冻本产品后适当震荡混匀并短暂离心, 使用完毕后宜立即按照试剂盒要求的条件保存。推荐使用碧云天DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒(D0068)或BeyoMag™磁珠法DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒(D0069)对本产品进行亚硫酸氢盐转化及回收处理, 转化回收后的DNA样本可直接用于甲基化分析实验的阴性对照。如果短期内不使用, 建议存放于-80°C保存。

2. 甲基化特异性PCR (MSP):

- 引物设计: 针对每一个待测基因需要分别设计甲基化特异性扩增引物及非甲基化特异性扩增引物。引物序列建议设计在富含胞嘧啶的序列区域, 更为理想的是选择文献报道或NCBI中可以查询到有相应的DNA甲基化修饰的区域, 且在两条引物的3'端包含至少1个CpG位点; 同时, 甲基化引物与非甲基化引物3'端应处于相同的CpG位点, 以便区分甲基化及非甲基化DNA的扩增产物, 避免出现假阳性的PCR结果, 以提高引物特异性[6]。
- 取约1μg本产品及其它待测DNA样品, 进行亚硫酸氢盐转化处理后, 再进行甲基化特异性PCR及凝胶电泳, 建议PCR体系中

亚硫酸氢盐转化处理后的DNA终浓度为20ng/μl。也可以考虑进行qPCR进行更精确的定量。

- c. 推荐使用碧云天相关PCR产品Easy-Load™ PCR SuperMix (Green, 2X) (D7256)、Easy-Load™ PCR Master Mix (Green, 2X) (D7255)、BeyoFusion™ PCR Master Mix (2X) (D7250)或Hot-Start Taq DNA Polymerase (D7211)进行MSP实验, 或者推荐使用BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X, 防污染型) (D7501)进行qPCR定量检测。
- d. 不同引物对使用本产品进行MSP后的凝胶电泳分析结果应为: 使用非甲基化特异性引物对的PCR样品显示电泳条带; 使用甲基化特异性引物对的PCR样品显示无条带或弱条带。不同样品引物对使用本产品进行甲基化特异性qPCR的分析结果应为: 使用非甲基化特异性引物对的qPCR样品显示较低的CT值; 使用甲基化特异性引物对的qPCR样品显示较高的CT值。具体CT值和使用的引物有关。

3. 甲基化敏感特异性限制酶切酶法(MSRE):

- a. 如果需对DNA样品的甲基化状态进行快速筛选, 可采用对甲基化敏感的限制性内切酶消化DNA样品, 选择性地切割未甲基化的CpG位点。常用的对甲基化敏感的限制性内切酶包括HpaII/MspI (C_CGG) (D5755/D5789)和SmaI/XmaI (CCC_GGG) (D5905/D5966)等[7]。
- b. 由于MspI可消化非甲基化和甲基化DNA, 而HpaII对CpG甲基化敏感(不能消化CpG甲基化位点)。因此, 对使用本产品进行甲基化特异性限制性内切酶酶切后的凝胶电泳分析结果应为: HpaII及MspI酶切样品均呈现出多个等间隔的带状条带或一系列向下迁移的短条带。如果使用野生型HCT116等样品的gDNA进行HpaII及MspI酶切, 两者的酶切电泳图谱会呈现一定的差异。

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.
6. Li LC, Dahiya R. Bioinformatics. 2002. 18(11):1427-31.
7. Ball MP, Li JB, Gao Y, Lee JH, LeProust EM, et al. Nat Biotechnol. 2009. 27(4):361-368.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D0068	DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒	50次/200次
D0069	BeyoMag™磁珠法DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒	96次/4×96次
D7211	Hot-Start Taq DNA Polymerase	200U/1000U/5000U
D7250	BeyoFusion™ PCR Master Mix (2X)	1ml/5ml
D7255	Easy-Load™ PCR Master Mix (Green, 2X)	100次/400次/2000次 /10000次/10000次
D7256	Easy-Load™ PCR SuperMix (Green, 2X)	100次/400次/2000次
D7501	BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X, 防污染型)	1ml/5ml/25ml
D9102	Human HCT116 DKO Non-Methylated gDNA	5μg

Version 2024.08.18