

EZ DNA Methylation™ Kit 使用说明

【说明】

DNA 用量:

500 pg - 2 μg DNA。便于结果优化，DNA 用量推荐在 200 ng 到 500 ng 之间；

转化效率：> 99% 的非甲基化 C 转化为 U；甲基化 C 的保护率 > 99%；

DNA 回收率：> 80%。

【实验步骤】

1. 制备 CT Conversion Reagent:

CT Conversion Reagent 中加入 750 μl 高压灭菌水和 210 μl M-Dilution Buffer，室温下充分混匀至澄清。

2. Input DNA **500 ng**，DNA 样本中加入 M-Dilution Buffer 5 μl，在热循环仪中 37°C 孵育 15 分钟，取 100 μl 制备的 CT Conversion Reagent 加入样本中，混匀。

3. 在热循环仪中 50°C 孵育 12-16 小时：

16 个循环：{ 95°C---30 秒
50°C---1 小时
4°C---hold

4. Zymo-Spin™ IC Column 置于收集管中，加入 M-Binding Buffer 400 μl，取出样本（步骤 3）在 0-4°C（如冰上）孵育 10 分钟，加入到 Zymo-Spin™ IC Column 中，盖上盖子，上下混匀。≥10,000 x g 离心 30 秒，弃废液。

5. Zymo-Spin™ IC Column 中加入 M-Wash Buffer 100 μl，≥10,000 x g 离心 30 秒，弃废液。

6. Zymo-Spin™ IC Column 中加入 M-Desulphonation Buffer 200 μl，室温(20°C – 30°C) 放置 15 – 20 分钟，≥10,000 x g 离心 30 秒，弃废液。

7. Zymo-Spin™ IC Column 中加入 M-Wash Buffer 200 μl，≥10,000 x g 离心 30 秒，弃废液，此步骤重复一次。

8. Zymo-Spin™ IC Column 置于 1.5 ml 新离心管中，加入 M-Elution Buffer 10 μl，≥10,000 x g 离心 30 秒，溶解洗脱 DNA。

得到的 DNA 立即用于后续实验或-20°C 贮存。