天净沙系列

CAT#:221013

低温运输，-20℃保存

# 人甲基化/非甲基化 DNA 标准品

# Human Methylated/Non-Methylated DNA Set

## 使用手册 V1.02

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

## 产品及特点

甲基化专一 PCR 必须要使用经过亚硫酸氢钠（biosulfite）修饰的 DNA 作为模板，此修饰反应需要用非甲基化的 DNA 和甲基化的 DNA 作为对照，否则无法判断样品是否甲基化。本产品就是根据此需求而开发，它具有下列特点：

1. 本产品所含的甲基化 DNA 是通过甲基化酶修饰人的基因组 DNA 而得，电泳呈单一条带。
2. 本产品所含的非甲基化 DNA 是通过以甲基化 DNA 为模板进过多次 nested WGA(全基因组扩增）扩增并纯化制备而得，原来的甲基化位点已经极度稀释。
3. 本产品主要用于检测和优化设计的甲基化引物。
4. 本产品的基因组 DNA 来源于人 HCT116 DKO 细胞株。
5. 本产品足够 50 次甲基化 PCR，如果每次模板使用量为 20 ng，每次做一个甲基化和一个非甲基化对照。
6. 标准品采用 NanoDrop 进行定量，若使用其他方法，会观测到数值差异。
7. 本产品只能用于科研。

## 规格及成分

本产品采用 5 孔盒包装

| 成份 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| 人甲基化 DNA，10 ng/μL | 221013a | 100 μL | 0.5 mL 红盖管 |
| 人非甲基化 DNA，10 ng/μL | 221013b | 100 μL | 0.5 mL 绿盖管 |
| 使用手册 | 221013sc | 无 | 1 份 |

## 自备试剂

超纯水、基因专一性甲基化 PCR 引物。

## 运输及保存

低温运输、-20℃保存、有效期一年。

## 使用方法

1. 按自备试剂对待测 DNA 样本，甲基化 DNA 对照，非甲基化 DNA 对照进行亚硫酸氢钠修饰和回收。
2. 按下表设置 30 μL 甲基化 PCR 反应（本产品不含所需试剂）：

| 成份 | 待测样品 | 人甲基化 DNA | 人非甲基化 DNA |
|---|---|---|---|
| 2×PCR MagicMix | 15 μL | 15 μL | 15 μL |
| 亚硫酸氢钠修饰的 DNA | 10-20 ng | 10-20 ng | 10-20 ng |
| 甲基化 PCR 引物 F | 0.2-0.5 μM | 0.2-0.5 μM | 0.2-0.5 μM |
| 甲基化 PCR 引物 R | 0.2-0.5 μM | 0.2-0.5 μM | 0.2-0.5 μM |
| 超纯水 | 补水到 30 μL | 补水到 30 μL | 补水到 30 μL |

3. PCR 参数需要用户自己根据引物和 PCR 产物的长度决定。不同基因甲基化情况不同，

| | |
|---|---|
| | 如出现非特异性扩增需要对引物或 PCR 参数进行优化。<br>注：本产品的人类 HCT116 DKO 非甲基化 DNA 是从含有 DNA 甲基转移酶 DNMT1（-/-）和 DNMT3b（-/-）1 基因敲除的细胞中纯化的。来自 HCT116 DKO 细胞的 DNA 具有较低水平的 DNA 甲基化，可作为 DNA 甲基化分析的对照。本产品的人类 HCT116 DKO 甲基化 DNA 是已被纯化的，并已被 M. SssI 甲基转移酶 2 在包含 CG 二核苷酸的所有胞嘧啶位置进行酶甲基化，可作为 DNA 甲基化分析的阳性对照。本产品质检采用酶切形式进行，使用 MspI 和 HpaII 限制性内切酶对非甲基化和甲基化 DNA 进行酶切验证。MspI 可消化非甲基化和甲基化的 DNA，HpaII 对 CpG 甲基化敏感不能消化甲基化 DNA。 |
| **关联产品** | 亚硫酸氢盐 DNA 修饰试剂盒 |