

Instrukcja

MagnifiQ™ CiTi Converter DNA Methylation Kit

Zestaw do przeprowadzania konwersji i przygotowania DNA do badań metylacji. Manualna metoda oczyszczania DNA z wykorzystaniem drobinek magnetycznych.

numer katalogowy	wielkość
027MB-50	50 reakcji
027MB-250	250 reakcji

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

Gwarancja

Firma A&A Biotechnology udziela gwarancji na niniejszy produkt.

Firma nie gwarantuje poprawnego działania produktu w przypadku:

- odstępstwa od dostarczonego wraz z produktem protokołu
- braku zalecanego w niniejszym protokole wyposażenia i materiałów
- użycia innych odczynników niż zalecane lub które nie wchodzi w skład produktu
- użycia przeterminowanych odczynników oraz elementów produktu.

Spis treści

Zalety	3
Opis	3
Skład	3
Dodatkowy sprzęt i odczynniki	3
Ważne informacje	4
Przygotowanie odczynnika C/T do konwersji	4
Protokół konwersji DNA	4
Protokół oczyszczania DNA po konwersji	5
Informacje bezpieczeństwa	7

Zalety

- Wydajna konwersja DNA bogatego w pary GC.
- Zminimalizowana degradacja i utrata DNA podczas obróbki.
- Prosta i wydajna metoda oczyszczania z wykorzystaniem drobinek magnetycznych.
- Otrzymanie ultraczystego DNA gotowego do analizy metylacji.

Opis

MagnifiQ™ CiTi Converter DNA Methylation kit zawiera zestaw odczynników do przeprowadzenia konwersji bisulfidowej oraz oczyszczania DNA po konwersji. Zestaw został tak zaprojektowany, aby zminimalizować degradację matrycy poddawanej konwersji. Zapewnia całkowitą konwersję niemetylowanych reszt cytozyny przy minimalnej utracie DNA na etapie konwersji i oczyszczania.

Skład

składnik	027MB-50		027MB-250		przechowywanie
	ilość	nr kat.	ilość	nr kat.	
C/T odczynnik do konwersji	5 pcs	K-C/T-1	25 pcs	K-C/T-1	15–25 °C
D roztwór do rozcieńczania	1.5 ml	K-D-15A	8 ml	K-D-8	15–25 °C
MQBB drobinek magnetyczne	1.1 ml	K-MQBB-11A	5.5 ml	K-MQBB-55A	4–8 °C
G roztwór wiążący	35 ml	K-G-35	165 ml	K-G-165	15–25 °C
A1 roztwór płuczący	30 ml	K-A1-30	150 ml	K-A1-150	15–25 °C
DS roztwór do desulfonowania	12 ml	K-DS-12	60 ml	K-DS-60	15–25 °C
bufor Tris	3 ml	K-TRIS-3	15 ml	K-TRIS-15	15–25 °C
woda ultraczysta	10 ml	K-WUP-10	50 ml	K-WUP-50	-20–25 °C

Dodatkowy sprzęt i odczynniki

- statyw magnetyczny
- sterylne probówki zamykane 1,5 ml
- worteks
- mikrowirówka
- termoblok lub termocykler

Ważne informacje

- Odczynnik **C/T** do konwersji jest dołączony do zestawu w formie substancji stałej (proszku) w ciemnej probówce i jest odczynnikiem wrażliwym na światło! W celu uzyskania najlepszych wyników zaleca się stosowanie odczynnika **C/T** do konwersji bezpośrednio po jego przygotowaniu.

Przygotowanie odczynnika C/T do konwersji

- Do ciemnej probówki zawierającej odczynnik **C/T** dodaj **750 µl** wody ultraczystej oraz **210 µl** roztworu **D** do rozcieńczania.

- Wymieszaj całość przez worteksowanie lub ciągłe mieszanie przez **10 min** w temp. pokojowej.

Informacja. Każda probówka odczynnika **C/T** umożliwia przeprowadzenie 10 reakcji konwersji DNA.

Informacja. Gotowy odczynnik **C/T** do konwersji może być przechowywany: przez noc w temp. pokojowej, do tygodnia w temp. +4 °C, do miesiąca w temp. -20 °C.

Protokół konwersji DNA

Zestaw umożliwia przeprowadzenie analiz na próbkach zawierających DNA w ilości **500 pg-2 µg**. Optymalna zalecana ilość DNA w próbce **200-500 ng**.

- Do próbek DNA dodaj wodę ultraczystą do uzyskania objętości **50 µl**. Dodaj **100 µl** roztworu odczynnika **C/T** do konwersji. Dokładnie wymieszaj przez pipetowanie.,

Uwaga. Nie worteksuj!

- Inkubuj próbki bez dostępu światła przez **10 min** w temperaturze **98 °C** a następnie **2,5 h** w **64 °C**.

- Schłódź próbki przez **10 min** w lodzie (**0-4 °C**).

Informacja. Próbkki mogą być przechowywane w temp. 4 °C do 20 godzin.

Protokół oczyszczania DNA po konwersji

1. Do próbek dodaj **600 µl** roztworu wiążącego **G** oraz **20 µl MQBB** drobinek magnetycznych. Wymieszaj przez pipetowanie lub kilkakrotne odwracanie probówek i inkubuj **5 min** w **temp. pokojowej**.
2. Krótco zwiruj probówki i przenieś je na statyw magnetyczny. Ostrożnie usuń supernatant.
3. Wyjmij probówki ze statywu magnetycznego **na czas tego i każdego następnego etapu dodawania buforu**.
4. Dodaj **100 µl** roztworu płuczącego **A1**. Wymieszaj przez pipetowanie.
5. Krótco zwiruj probówki i przenieś je na statyw magnetyczny. Ostrożnie usuń supernatant.
6. Dodaj **200 µl** roztworu do desulfonowania **DS**. Wymieszaj przez pipetowanie i inkubuj **10 min** w **temp. pokojowej**.
7. Krótco zwiruj probówki i przenieś je na statyw magnetyczny. Ostrożnie usuń supernatant.
8. Dodaj **200 µl** roztworu płuczącego **A1**. Wymieszaj przez pipetowanie.
9. Krótco zwiruj probówki i przenieś je na statyw magnetyczny. Ostrożnie usuń supernatant.
10. Dodaj **200 µl** roztworu płuczącego **A1**. Wymieszaj przez pipetowanie.
11. Krótco zwiruj probówki i przenieś je na statyw magnetyczny. Ostrożnie usuń supernatant.
12. Susz probówki z otwartymi wieczkami przez **10 min** w **temp. pokojowej**.
13. Dodaj **15-40 µl** buforu **Tris** lub **wody ultraczystej**. Wymieszaj przez pipetowanie. Inkubuj **10 min** w **65 °C**.

14. Krótco zwirow probówki i przenieść je na statyw magnetyczny.
Przenieś eluaty DNA do nowych sterylanych probówek.

Informacja. Oczyszczone i zmodyfikowane DNA znajdujące się w probówkach przechowywać w -20 °C do czasu dalszych analiz.

Informacje bezpieczeństwa



NIEBEZPIECZEŃSTWO

A1 roztwór płuczący

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
 H319 Działa drażniąco na oczy.
 H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.
 P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Palenia wzbronione.
 P261 Unikać wdychania par.
 P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.



UWAGA

C/T odczynnik do konwersji

H302 Działa szkodliwie po połknięciu.
 H319 Działa drażniąco na oczy.
 P201 Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.
 P264 Dokładnie umyć ciało po użyciu.
 P270 Nie jeść, nie pić i nie palić podczas używania produktu.
 P280 Stosować ochronę oczu / ochronę twarzy.
 P301+P312 W przypadku połknięcia: W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc / lekarzem.
 P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.
 P337+P313 W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady / zgłosić się pod opiekę lekarza.



NIEBEZPIECZEŃSTWO

D roztwór do rozcieńczania

H290 Może powodować korozję metali.
 H314 Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.
 P260 Nie wdychać pyłu.
 P280 Stosować rękawice ochronne / odzież ochronną / ochronę oczu / ochronę twarzy.
 P303+P361+P353 W przypadku kontaktu z skórą (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody.
 P304+P340+P310 W przypadku wdychania: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem.
 P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.
 P310 Natychmiast skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem.

DS roztwór do desulfonowania



NIEBEZPIECZEŃSTWO

H225 Wysoce łatwopalna ciecz i pary.
 H290 Może powodować korozję metali.
 H314+H319 Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.
 H336 Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.
 P210 Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Palenia wzbronione.
 P261 Unikać wdychania pyłu.
 P280 Stosować rękawice ochronne / odzież ochronną / ochronę oczu / ochronę twarzy.
 P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.
 P310 Natychmiast skontaktować się z Ośrodkiem Zatruc lub lekarzem.



UWAGA

G roztwór wiążący

H302 Działa szkodliwie po połknięciu.
 H315 Działa drażniąco na skórę.
 H319 Działa drażniąco na oczy.
 P305+P351+P338 W przypadku dostania się do oczu: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.



A&A BIOTECHNOLOGY
innovating life science

A&A Biotechnology, ul. Strzelca 40, 80-299 Gdańsk
tel. 883 323 761, 600 776 268
info@aabiotech.com, www.aabiotech.com

