

## Instrukcja

# Fast CiTi Converter DNA Methylation Kit

Zestaw do przeprowadzania konwersji i przygotowania DNA do badań metylacji. Zawiera gotowy do użycia odczynnik Fast C/T opracowany z myślą o szybkiej i wygodnej reakcji konwersji DNA.

| numer katalogowy | wielkość    |
|------------------|-------------|
| 027F-50          | 50 reakcji  |
| 027F-200         | 200 reakcji |

Produkt przeznaczony wyłącznie do badań naukowych.

### Guarantee

#### 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 |
| Protokół konwersji DNA                 | 4 |
| Protokół oczyszczania DNA po konwersji | 5 |
| Najczęściej zadawane pytania           | 6 |
| Informacje bezpieczeństwa              | 7 |

## Zalety

- Szybka i wydajna konwersja DNA bogatego w pary GC w zaledwie 60 minut
- Łatwy i wygodny w użyciu odczynnik Fast C/T w formie roztworu
- Zminimalizowana degradacja i utrata DNA podczas obróbki
- Otrzymanie ultraczystego DNA gotowego do analizy metylacji

## Opis

**Fast 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. W przeciwieństwie do standardowego odczynnika do konwersji, Fast C/T jest gotowym do użycia roztworem, który pozwala przeprowadzić pełną konwersję próbki w zaledwie 60 minut.

## Skład

| składnik                        | 027F-50    |            | 027F-200    |            | przechowywanie |
|---------------------------------|------------|------------|-------------|------------|----------------|
|                                 | ilość      | nr kat.    | ilość       | nr kat.    |                |
| mikrokolumny z probówkami 2 ml  | 50 szt.    | K-CT-50    | 200 szt.    | K-CT-250   | 15–25 °C       |
| Fast C/T odczynnik do konwersji | 5 x 1.1 ml | K-FC/T-11A | 20 x 1.1 ml | K-FC/T-11A | 15–25 °C       |
| G roztwór wiążący               | 35 ml      | K-G-35     | 130 ml      | K-G-130    | 15–25 °C       |
| A1 roztwór płuczący             | 30 ml      | K-A1-30    | 110 ml      | K-A1-110   | 15–25 °C       |
| DS roztwór do desulfonowania    | 12 ml      | K-DS-12    | 45 ml       | K-DS-45    | 15–25 °C       |
| bufor Tris                      | 2 ml       | K-TRIS-2   | 8 ml        | K-TRIS-8   | 15–25 °C       |
| woda ultraczysta                | 8 ml       | K-WUP-8    | 30 ml       | K-WUP-30   | -20–25 °C      |

## Dodatkowy sprzęt i odczynniki

- sterylne probówki Eppendorf 1,5 ml
- vorteks
- mikrowirówka
- termoblok lub termocykler

## Ważne informacje

- Odczynnik Fast C/T jest dostarczony w formie roztworu w ciemnej probówce i jest wrażliwy na działanie tlenu i światła. Dla uzyskania najlepszych rezultatów, zaleca się kompletne zużycie raz otwartej próbki przed rozpoczęciem kolejnej.
- Do przeprowadzenia reakcji konwersji zalecane jest użycie termocyklera, w celu zapewnienia jednakowego grzania i uniknięcia parowania próbek.

## 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**.

1. Do próbek DNA dodać wodę ultraczystą do uzyskania objętości **50 µl**.  
Dodać **100 µl** roztworu odczynnika **Fast C/T** do konwersji. Dokładnie wymieszać przez pipetowanie.,  
**Uwaga.** Nie worteksować!
2. Inkubować próbki w termocyklerze przez **2 min** w temperaturze **98 °C** a następnie **60 minut** w **85 °C**.
3. Schłodzić próbki w lodzie (**0-4 °C**).  
**Informacja.** Próbki mogą być przechowywane w temp. **4 °C** do 20 godzin.

## Protokół oczyszczania DNA po konwersji

1. Do próbek dodać **600 µl** roztworu wiążącego **G**.  
Wymieszać przez pipetowanie lub kilkakrotne odwracanie probówek.
2. Całość nanieść na **mikrokolumny**.  
Zamknąć wieczka.
3. Wirować **30-60 s** przy **10 000-15 000 RPM** ( $\geq 10\ 000 \times g$ ).
4. Wyjąć mikrokolumny z probówek, wylać przesącz i ponownie włożyć mikrokolumny do **tych samych** probówek.
5. Nanieść na mikrokolumny po **100 µl** roztworu płuczącego **A1**.  
Zamknąć wieczka.
6. Wirować przez **30-60 s** przy **10 000-15 000 RPM** ( $\geq 10\ 000 \times g$ ).
7. Nanieść na mikrokolumny po **200 µl** roztworu do desulfonowania **DS**.  
Inkubować **10 min** w **temp. pokojowej**.
8. Wirować przez **30-60 s** przy **10 000-15 000 RPM** ( $\geq 10\ 000 \times g$ ).
9. Wyjąć mikrokolumny z probówek, wylać przesącz i ponownie włożyć mikrokolumny do **tych samych** probówek.
10. Nanieść na mikrokolumny po **200 µl** roztworu płuczącego **A1**.  
Zamknąć wieczka.
11. Wirować przez **30-60 s** przy **10 000-15 000 RPM** ( $\geq 10\ 000 \times g$ ).
12. Nanieść na mikrokolumny po **200 µl** roztworu płuczącego **A1**.  
Zamknąć wieczka.
13. Wirować **2 min** przy **10 000-15 000 RPM** ( $\geq 10\ 000 \times g$ ).
14. **Uwaga.** W momencie dodawania buforu elucyjnego należy zwrócić uwagę, aby płyn całkowicie pokrył złożo. Powinno się go dodawać na środek mikrokolumny. Jeżeli część płynu elucyjnego pozostanie na ściankach mikrokolumny, to elucja będzie mniej wydajna.

Osuszone mikrokolumny umieścić w sterylnych probówkach 1,5 ml (nie ma w zestawie). Na złożę znajdującego się na dnie mikrokolumn nanieść od 15 do 30  $\mu$ l buforu Tris lub wody ultraczystej. Zamknąć wieczka.

15. Inkubować mikrokolumny 3 min w temp. pokojowej.

16. Wirować 1 min przy 10 000-15 000 RPM ( $\geq 10\ 000 \times g$ ).

17. Usunąć mikrokolumny.

**Informacja.** Oczyszczone i zmodyfikowane DNA znajdujące się w probówkach przechowywać w zakresie temp. +4 °C do +8 °C do czasu dalszych analiz.

## Najczęściej zadawane pytania

**Pytanie:** Jaka ilość DNA potrzebna jest do wydajnej konwersji DNA?

**Odpowiedź:** Optymalna ilość DNA na próbkę powinna zawierać się w granicach 200-500 ng. Zestaw CiTi Converter Methylation Kit umożliwi przeprowadzenie analizy na próbkach zawierających DNA w ilości od 500 pg do 2  $\mu$ g.

**Pytanie:** Jaka jest wydajność chemicznej konwersji DNA dzięki zastosowaniu zestawu Fast CiTi Converter DNA Methylation Kit?

**Odpowiedź:** Ponad 99% niemetylowanych reszt cytozyny [C] ulega konwersji do reszty uracylu [U], przy jednoczesnej >99% ochronie metylowanych reszt cytozyny.

**Pytanie:** Jaka jest wydajność oczyszczania DNA po konwersji?

**Odpowiedź:** Zestaw Fast CiTi Converter Methylation Kit umożliwi odzysk skonwertowanego DNA ze średnią wydajnością ok. 80%.

**Pytanie:** Jaka polimeraza DNA jest zalecana do amplifikacji skonwertowanego DNA?

**Odpowiedź:** Zalecamy produkt A&A Biotechnology: Sensitive CiTi Mix EvaGreen® ([nr kat. 2017CT-200](#)).

# 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**

## Fast 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.  
 P337+P313 W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady / zgłosić się pod opiekę lekarza.



**NIEBEZPIECZEŃSTWO**

## DS roztwór do desulfonowania

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.  
 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

wersja 2024-1

