

一般实验室研究使用，不适用于**诊断和治疗**

# DNA羟甲基化定量检测试剂盒 (比色法)

用于快速检测全基因组/特定位点DNA中5hmc的含量，时间短，效率高！

目录号：**A-P-1036-48 (48次)**  
**A-P-1036-48 (96次)**

## 操作手册

在您收到订购的产品时，请确认操作手册是配套的！

同时，有翻译不妥的地方还请各位老师批评指正！

反馈信箱：[tech@aderr.com](mailto:tech@aderr.com)

2011年10月，第1版，对应英文版本1.1006



艾德科技（北京）有限公司  
**A&D Technology Corporation**

地 址：北京昌平区中关村生命科学园东 60 米 (102206)

电 话：010-52406250

传 真：010-52406250

网 址：[www.aderr.com](http://www.aderr.com)

Email:[tech@aderr.com](mailto:tech@aderr.com)



艾德科技(北京)有限公司  
**A&D Technology Corporation**

## 目录

操作 .....	3
试剂盒组成.....	3
运输与使用 .....	3
介绍 .....	4
产品特性.....	4
一般特性.....	5
产品概述 .....	6
参考文献.....	8
原理/程序.....	11
用法 .....	11
配套器材（自备）.....	11
操作手册.....	12
建议条带.....	16
附录 .....	17
凝难解答 .....	17
订购信息.....	19
推荐产品.....	20
推荐阅读.....	21

## 操作

组成	A-P-1037-48 (48次)	A-P-1037-96 (96次)	储存
HC1 (10X Wash Buffer)	14 ml	28 ml	4°C
HC2 (Binding Solution)	5 ml	10 ml	常温
HC3 (Negative Control I, 20 ug/ml)*	10 ul	20 ul	-20°C
HC4 (Negative Control II, 20 ug/ml)*	10 ul	20 ul	-20°C
HC5 (Positive Control, 20 ug/ml)*	10 ul	20 ul	-20°C
HC6 (Capture Antibody, 1000 ug/ml)*	4 ul	8 ul	4°C
HC7(Detection Antibody, 400 ug/ml)*	8 ul	16 ul	-20°C
HC8 (Enhancer Solution)*	8 ul	16 ul	-20°C
HC9 (Developer Solution)*	5 ml	10 ml	4°C
HC10 (Stop Solution)	3 ml	6 ml	常温
8-Well Assay Strips (With Frame)	6	12	4°C
操作手册	1	1	常温

\* 使用前，请将溶液离心至管底！

提示: **HC3** Negative Control I是未甲基化的多核苷酸含20%的胞嘧啶。

**HC4** Negative Control II是甲基化的多核苷酸含20%的5甲基胞嘧啶。

**HC5** Positive Control 是羟基化的多核苷酸含20%的羟甲基胞嘧啶。

## 运输与使用

常温+低温（4°C和-20°C）

收到后: (1) 将组件**HC3, HC4, HC5, HC7**和 **HC8** 避光储存-20°C

(2) 将组件**HC1, HC6, HC9**, 和**8-Well Assay** 避光储存4°C

(3) 将组件**HC2** 和**HC10**避光储存 常温

提示: 使用之前检查溶液**HC1**是否含有盐的沉淀物。

如是，常温或37° C预热，直至盐的沉淀物溶液全部溶解。

请收到试剂盒时，将所有的组件进行恰当的保存！

## 介绍

### 产品特性:

在使用DNA羟甲基化定量检测试剂盒(比色法)检测全基因组DNA羟甲基含量时是非常适合的.不论是从哺乳类动物,植物,真菌,细菌,病毒和培养细胞,新鲜与冷冻的组织,石蜡包埋组织,血浆/血清样本,体液样本.此品尤其适合仅有少量样品在激光显微捕获了解剖样品和胚胎.

### DNA输入量:

每次DNA的上样量为50 - 200ng.最优DNA的输入量为200 ng,hmDNA一般都小于0.6%的总DNA。

### 材料:

材料包括各种组织或细胞试样如细胞培养瓶或酶细胞、新鲜和冷冻组织,石蜡包埋组织、血浆/血清样品,体液样品等.

### 内控:

此品包含有阳性与阴性DNA对照。一个标准曲线可以进行(范围:1-10 ng)或单个数量的羟甲基化的DNA可以作为阳性对照。因为全基因组羟甲基化是从组织到组织,从正常和病变的区域,建议确保运行复制样品信号的生成是经过验证的。这个工具可以让用户以量化的绝对数量或相对数量来确定羟甲基化的DNA。

### 预防措施:

为了避免交叉污染,小心样品或溶液的加入。在使用移液器进行加不同液体样本时,要及时更换枪头。在整个实验程序中需要戴手套。且不同样品之间的接触,立即更换手套

### 一般特性:

#### 质控:

每批DNA羟甲基化定量检测试剂盒(比色法)的生产,对既定的各个组件的生产把控,确保了稳定的产品质量。保证所有产品的性能描述都符合行业的产品标准。

#### 质量保证:

此品如果没有达到您的实验期望,可以给我们的技术发送邮件到:[tech@aderr.com](mailto:tech@aderr.com)。我们也鼓励您随时与我们联系,如果您有任何意见或新的应用领域及产品性能和技术。

#### 安全:

对于实验人员工作时,实验室应配备安全的外套,一次性手套,和适当的防护眼罩

#### 产品更新:

艾德科技有权更改或修改任何产品,以提高其性能和设计。这个操作指南的信息是可能随时变更,恕不另行通知。因此,此使用指南仅为提供此品用户时配套使用。

#### 使用限制:

DNA羟甲基化定量检测试剂盒(比色法)是为研究用途,不适合诊断或治疗的应用。

#### 知识产权:

DNA羟甲基化定量检测试剂盒(比色法)中使用的原理和方法,我司有产品使用的追索权。

## 产品概述:

DNA 羟甲基化定量检测试剂盒(比色法)中含有定量检测全基因组羟甲基化所必需的所有试剂。在检测实验中, DNA 被固定在一种有 DNA 吸附能力的孔上, 羟甲基化的片段会被捕获剂以及检测抗体识别, 用荧光分光光度计读取在  $\text{ex}=530 \pm 20/\text{em}=580 \pm 20 \text{ nm}$  处的荧光强度来定量。羟甲基化的 DNA 的量与荧光强度值成线性关系, 可以通过本试剂盒提供的方程来计算两种不同的羟甲基化 DNA 样品的相对羟甲基化状态或者通过标准曲线完全定量 5-mc。基于其工作原理和微孔板模式, 本试剂盒可以用于各种物种来源的多种样品形式, 包括培养的细胞、新鲜和冷冻的组织、石蜡包埋组织、血浆/血清样品以及体液样品。

## 关于 5-hmC

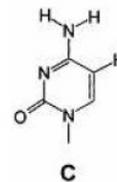
5-hmC 是近年来在动物组织中发现的, 由胞嘧啶修饰而来。5-hmC 在表观遗传学上的功能可能与 5-甲基化胞嘧啶(5-mC)不同。尽管到现在为止还不确知其功能, 有研究者猜测它在调控基因的表达与关闭过程中起着重要的作用。5-mC 的发现让我们不得不重新评估 DNA 甲基信息, 也不得不监测人类的健康组织和病理组织之间 5-mC 相对分布的差异。在我司的 DNA 羟甲基化定量检测技术之前, 我们还没有发现任何直接的常规方法来检测 5-hmC, 以及区分 5-hmC 和 5-mC。

## 5-hmC 和 5-mC 的区别

时下常用的 DNA 甲基化分析方法包括限制内切酶酶切和亚硫酸氢盐后的定性定量分析或 MeDIP 介导的 MS-PCR 和测序, 这些技术都不适合用来检测 5-hmC, 因为它与 5-mC 事实上很难用这类方法区分开来。为了解决这个问题, 我司特研制了 DNA 羟甲基化定量检测试剂盒(荧光法)。本试剂盒提供了一种很经济的方法来检测 5-羟甲基化胞嘧啶, 并且区分 5-hmC, 5-mC, 和 C, 使得研究者能够重新评估他们的 DNA 甲基化信息, 也能够在新样品中寻找 DNA 羟甲基化。

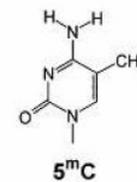
最近, 一种新的修正的核苷酸被命名为: 5-hmC, 且在老鼠的大脑和胚胎干细胞中已经发现。在 1952 年, 5-hmC 第一次发现是在噬菌体内。在哺

乳动物中, 它是由甲基化胞嘧啶氧化所产生的, 这是一个通过 T 族酶和 DNA 甲基转移酶蛋白介导的一个反应。下面是胞嘧啶的甲基化、羟甲基化形式:



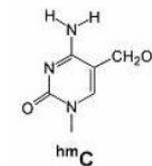
未甲基化 DNA

T-C-G-T-C-G-A-C-G



甲基化 DNA

T-mC-G-T-mC-G-A-mC-G



羟甲基化 DNA

T-hmC-G-T-hmC-G-A-hmC-G

目前, 在表观遗传学界 5-hmC 更广泛的功能仍然是一个谜。然而, 一系列的有力证据已经表明在去甲基化、染色体重塑和基因表达调节, 尤其是脑的特定部位基因表达调控中 5-hmC 扮演着重要角色。

试剂盒曾经对来自小鼠大脑和海拉细胞系的样品成功地进行了 5-hmC 的定量, 所得到的结果与用 HPLC 和 LC-MS 的方法相当。通过使用本试剂盒, 研究者们首次在正常人类脑部组织和结肠组织中发现了高丰度的 5-hmC。同时, 研究结果还显示, 正常人类脑部组织和结肠组织中 5-hmC 分别占总甲基化胞嘧啶(5-mC 和 5-hmC 的总和)的 32%和 16%。相反, 在结肠癌细胞系(HCT116)和宫颈癌细胞系(HeLa)中, 5-hmC 的比率很低, 几乎没有。

96 孔板模式让您可以根据自己的需要选择用手工或者高通量; 此试剂盒中提供通用阳性和阴性对照, 能用于定量检测各种来源的 DNA 样品中的羟甲基化状态, 包括哺乳动物、植物、真菌、细菌以及病毒; 此试剂盒中含有定量检测全基因组 DNA 羟甲基化实验所有用到的试剂, 包括阳性和阴性对照。直接测定荧光强度的方法进行定量检测取代了已过时的和劣质的方法, 无须 DNA 消化/变性、提取, 不用使用套色版, 不接触放射性材料; 本品用到的新方法和专利试剂使得羟甲基化 DNA 定量实验结果精确、高度灵敏特异, 检测极限为 10 pg 的羟甲基化 DNA, 检测范围宽至 10 pg 到 20 ng, 检测灵敏度是 HPLC 的十倍(0.008% vs 0.08%), 不与 DNA 上甲基化或者未甲基化胞嘧啶反应, 特异检测 5-hmC。

- 1) 5-mC 转化到 5-hmC 大大降低蛋白质的亲和力对于甲基化 DNA;
- 2) 5-hmC 群系通过氧化损伤或借助外源的醛式的 DNMTs 能够防止参与的 DNMT 目标胞嘧啶不被甲基化
- 3) 5-hmC 可能会吸收特异性的蛋白,并致使染色质的结构发生改变或 DNA 甲基化模式的改变
- 4) 5-hmC 分布在 40%的甲基化胞嘧啶的蒲金耶氏细胞 (Purkinje cells) 中,有 10%在颗粒神经元 (granule neurons) 中。

#### 本试剂盒有以下优点和特性:

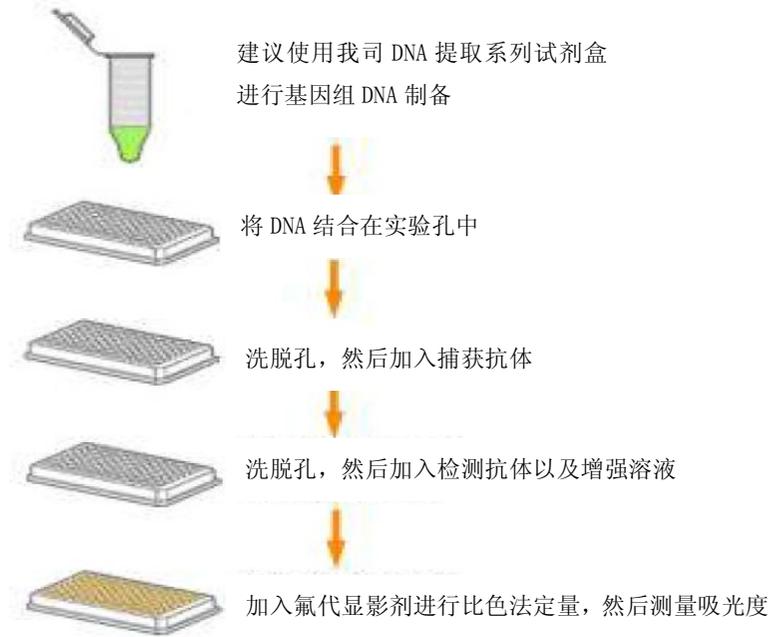
- 整个比色法检测技术的操作简单易学,方便快捷,只需要 3 小时 45 分钟就能完成实验;
- 灵敏度高,检测极限低至 40 pg 羟甲基化的 DNA;
- 对于未甲基化和甲基化的胞嘧啶无特异性,仅对羟甲基化 DNA (5-hmC) 进行高度专一的检测;
- 通用型的阳性与阴性对照,对于任何种属的羟甲基化 DNA 状态进行定量检测是非常理想的;
- 微孔板 (96 孔) 的设计使实验更灵活,无论对于手动还是高通量分析;
- 简单、可信和检测实验条件恒定。

#### 参考文献:

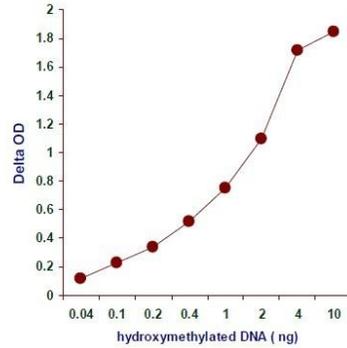
1. Robertson KD. Nat Rev Genet. 6:597-610, 2005.
2. Kriaucionis S et al: Science. 324: 929-930, 2009.
3. WYATT GR et al: Biochem J. 55:774-8, 1953.
4. Tahiliani M et al: Science. 324: 930-935, 2009.
5. Valinluck V et al: Nucleic Acids Res. 32: 4100-4108. 2004.
6. Valinluck V et al: Cancer Res. 67:946-50, 2007.
7. Jin SG et al: Nucleic Acids Res. 38: e125, 2010.

#### 原理/程序:

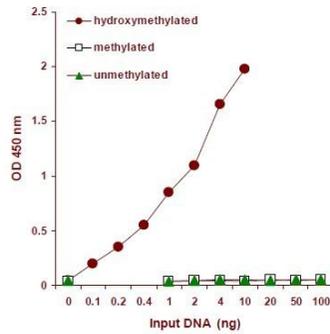
DNA羟甲基化定量检测试剂盒(比色法)包含全基因组 DNA 羟甲基化定量的所有试剂。在此试验中, DNA必定会跑出经过处理后的具有高亲和性的DNA 条带。在检测实验中, DNA被固定在一种有DNA吸附能力的孔上, 羟甲基化的片段会被捕获剂以及检测抗体识别, 然后使用荧光分光光度计读RFU(相对荧光单位), 对其进行荧光法定量。羟甲基化的DNA的量同测量的OD成比例。



图解: DNA羟甲基化定量检测试剂盒(比色法)实验过程



通过DNA羟甲基化定量检测试剂盒获得高敏感度和特异性 5-羟甲基胞嘧啶检测演示。不同浓度的合成未甲基化DNA(只包含胞嘧啶)，甲基化DNA(只包含5-甲基胞嘧啶)，和羟甲基化DNA(只包含5-羟甲基胞嘧啶) 将会被加入到孔中，通过DNA羟甲基化定量检测试剂盒（比色法）进行检测。



羟甲基化定量检测试剂盒获得高敏感度和特异性 5-羟甲基胞嘧啶检测演示。不同浓度的合成未甲基化DNA(只包含胞嘧啶)，甲基化DNA(只包含5-甲基胞嘧啶)，和羟甲基化DNA(只包含5-羟甲基胞嘧啶) 将会被加入到孔中，通过DNA羟甲基化定量检测试剂盒（比色法）进行检测。

## 用法

### 配套器材（自备）

- ✓ 可调移液器
- ✓ 各型号塑料枪头
- ✓ 荧光分光光度计（可在 450nm 处读取 OD 值）
- ✓ 1.5ml 离心管
- ✓ 37° C 孵化器材
- ✓ 板密封材料和石蜡封口膜
- ✓ 双蒸馏水
- ✓ 1 X TE buffer pH 7.5 to 8.0
- ✓ 分离 DNA
- ✓ 其它

## 操作手册

为了得到更理想的实验结果,请您在实验开始前认真地阅读整个的操作手册。

### 起始材料

**DNA 输入量:** 每次反应 DNA 量从 50ng 到 200ng 不等. 最佳的量是 200ng/反应。起始 DNA 可以是在水中也可以是在缓冲液中例如: TE。

**DNA 提取:** 实验者可以采用多种方法进行 DNA 提取。我司提供一系列基因组 DNA 提取试剂盒,以供参考。(看 19 页“订购须知”下面)。

**DNA 保存:** 提取的基因组 DNA 在使用前可保存于 4°C (短期) 或-20°C (长期)。

### 1. 准备 1X 清洗缓冲液 (wash buffer) (HC1)

**48-Assay Kit:** 将 13 ml **HC1 10X** 清洗缓冲液加入到 117 ml 蒸馏水中 (pH 7.2-7.5)。

**96-Assay Kit:** 将 26 ml **HC1 10X** 清洗缓冲液加入到 234 ml 蒸馏水中 (pH 7.2-7.5)。

**稀释的 HC1 1X** 清洗缓冲液可以储存在 4°C 的条件下长达 6 个月。

### 2. 准备稀释的阳性对照 (HC5)

**单点对照准备:** 使用 **1X TE** 缓冲液将 **HC5** 阳性对照稀释到 5 ng/μl (1μl **HC5** + 3μl **TE** 缓冲液)。

**建议的标准曲线准备:** 第一步, 稀释 **HC5** 到 10 ng/μl (5μl **HC5** + 5μl **1X TE** 缓冲液)。然后, 依照下面的稀释表, 再准备五种浓度, 通过 10 ng/μl 稀释的 **HC5** 和 **1X TE** 到 0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, and 10.0 ng/μl。

管子	HC5(10ng/ul)	1X TE	HC5 终浓度
1	0.0 ul	10.0 ul	0.0 ng/ul
2	1.0 ul	19.0 ul	0.5 ng/ul
3	1.0 ul	9.0 ul	1.0 ng/ul
4	1.0 ul	4.0 ul	2.0 ng/ul
5	2.5 ul	2.5 ul	5.0 ng/ul
6	4.5 ul	0.0 ul	10.0 ng/ul

### 3. DNA 键合

- 预先确定好实验的条孔数量。小心的从座架上拿走不需要的条孔, 将其放回到包中 (密封好包, 存于 4°C 下)。
- 在每个孔中加入 80 μl **HC2** 结合溶液。
- 加入 1 μl **HC3**, 1 μl **HC4**, 1 μl **稀释的 HC5**(看下面“注意”), 200 ng 实验者 DNA 标本(1-8 μl) 到表 1 中或表 2 (第 16 页) 指定的孔中。微微的左右倾斜或慢慢地晃动板子几次, 使溶液混合, 并确保溶液均匀的覆盖孔的底面。  
注意: (1) 为得到单个对照, 加入在第二步中已经准备好的 5 ng/μl 浓度的 **HC5** 1 μl; 为得到标准曲线, 加入浓度为 0.5 到 10 ng/μl 的 **HC5 稀释液** 1 μl。(见第二步中标)。最终的浓度应该是每孔 0.5, 1, 2, 5, 和 10 ng。  
(2) 为得到最佳结合, 所添加的 DNA 样本量不应大于 8 μl。
- 在 37°C 下, 用板密封盖或者用封口膜 M 覆盖条带板和孵化物, 达 90 分钟。
- 将 **HC2** 结合溶液从每个孔中移走。使用 150 μl **稀释的 HC1 1X** 清洗缓冲液清洗每一个孔, 每次都要清洗三遍。

### 4. 羟甲基化 DNA 捕获

- 使用**稀释的 HC1** 来稀释 **HC6** (以 1:1000 比例)。
- 加入 50 μl **稀释的 HC6** 到每个孔中, 然后在室温下密封和孵化达 60 分钟。
- 移走每个孔中的**稀释的 HC6** 溶液。
- 用 150 μl **稀释的 HC1** 清洗每一个孔, 三遍。
- 使用**稀释的 HC1** 来稀释 **HC7** (以 1:1000 比例)。
- 加入 50 μl **稀释的 HC7** 到每个孔中, 然后在室温下密封和孵化达 30 分钟。
- 移走每个孔中的**稀释的 HC7** 溶液。
- 用 150 μl **稀释的 HC1** 清洗每一个孔, 四遍。
- 使用**稀释的 HC1** 来稀释 **HC8** (以 1:5000 比例)。
- 加入 50 μl **稀释的 HC8** 到每个孔中, 然后在室温下密封和孵化达 30 分钟。
- 移走每个孔中的**稀释的 HC8** 溶液。
- 用 150 μl **稀释的 HC1** 清洗每一个孔, 五遍。

## 5. 信号检测

- 通过将 100µl **HC9**，在室温下避光孵育 1 至 10 分钟。开始监测样本孔与阳性对照孔中的颜色变化。**HC9** 溶液的加入使得充足的甲基化的 DNA 变为蓝色。
- 当阳性对照孔中的颜色变为中蓝色时，加 50 µl **HC10**（氟代显影剂）加入到孔中，终止酶的反应。在加入 **HC10**（氟代显影剂）后，孔会变成黄色。在 2-15 分钟内，应使用荧光分析仪在 450 nm 条件下，测量并读取吸光度。

**注意：**如果条带孔框同分析仪不相符，将溶液转移到 96 孔板上。

## 6. 5-hmC 计算

**相对定量：**为了确定两种不同DNA样本的相对羟甲基化状态，总DNA中5-hmC的百分比可以通过以下公式进行简单计算得出：

$$5\text{-hmC \%} = \frac{(\text{Sample OD} - \text{HC4 OD}) \div S}{(\text{HC5 OD} - \text{HC4 OD}) \times 5^* \div P} \times 100\%$$

S 代表DNA样本的输入量 单位：ng.

P 代表阳性对照(**HC5**)的输入量 单位ng.

\* 5 是一个代数，将5-hmC 在阳性对照中的含量标准化达到100%，由于阳性对照只包含20%的5-hmC。

计算举例：

HC4中平均 OD450值 是0.085

HC5中平均 OD450值 是0.780

样本中平均 OD450值 是0.158

S 是 200 ng

P 是 5 ng

$$5\text{-hmC \%} = \frac{(0.158 - 0.085) \div 200}{(0.780 - 0.085) \times 5 \div 5} \times 100\% = 0.0525\%$$

**绝对定量：**要得到羟甲基化的绝对定量就要使用精确计算，首先，生成一个标准曲线，在每一个浓度点，标绘出OD值同**HC5**的对比，然后，使用线性回归（可使用Microsoft Excel中线性回归计算功能）确定标准曲线的斜率（OD/ng），及标准曲线最线性的部分（包含至少4个浓度点），从而得到最佳的斜率计算。现在可通过以下公式来计算5-hmC在全部DNA中的含量和百分比

$$5\text{-hmC (ng)} = \frac{\text{Sample OD} - \text{HC4 OD}}{\text{Slope} \times 5^*}$$

$$5\text{-hmC \%} = \frac{5\text{-hmC Amount (ng)}}{S} \times 100\%$$

S代表DNA样本的初始输入量 单位：ng.

\* 5 是一个代数，将5-hmC 在阳性对照中的含量标准化达到100%，由于阳性对照只包含20%的5-hmC。

计算举例：

**HC4**中平均 OD450值 是0.085

样本中平均 OD450值 是0.158

斜率是0.14 OD/ng

S 是 200 ng

$$5\text{-hmC (ng)} = \frac{0.158 - 0.085}{0.14 \times 5} = 0.104 \text{ ng}$$

$$5\text{-hmC \%} = \frac{0.097}{200} \times 100\% = 0.0521\%$$

## 建议条带孔的设置

表一：建议在 48 微孔板（或 96 微孔板，其中 7 至 12 孔可设置样本）中您使用单个位点的阳性对照，我们可以同时检测标准品与样品各两份。

Well #	Strip 1	Strip 2	Strip 3	Strip 4	Strip 5	Strip 6
A	HC3	HC3	Sample	Sample	Sample	Sample
B	HC4	HC4	Sample	Sample	Sample	Sample
C	HC5	HC5	Sample	Sample	Sample	Sample
D	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample
E	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample
F	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample
G	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample
H	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample

表二：建议在 48 微孔板（或 96 微孔板，其中 7 至 12 孔可设置样本）中您可以制作标准曲线，我们可以同时检测标准品与样品各两份。

Well #	Strip 1	Strip 2	Strip 3	Strip 4	Strip 5	Strip 6
A	HC3	HC3	Sample	Sample	Sample	Sample
B	HC4	HC4	Sample	Sample	Sample	Sample
C	HC5 0.5 ng/μl	HC5 0.5 ng/μl	Sample	Sample	Sample	Sample
D	HC5 1 ng/μl	HC5 1 ng/μl	Sample	Sample	Sample	Sample
E	HC5 2 ng/μl	HC5 2 ng/μl	Sample	Sample	Sample	Sample
F	HC5 5 ng/μl	HC5 5 ng/μl	Sample	Sample	Sample	Sample
G	HC5 10 ng/μl	HC5 10 ng/μl	Sample	Sample	Sample	Sample
H	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample

## 附录

### 疑难解答

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
阳性对照与样品均无信号	是否正确的加入试剂	在操作手册中任何一步可能被您忽略了，检查试剂是否被添加到恰当的位置。
	在加入结合缓冲液之液，孔被不恰当地清洗	在加入阳性对照和样本之前确保孔没有被清洗
	孔底部并没有完全被组件 HC2 溶液所复盖	通过微微的左右倾斜或慢慢地晃动板子几次，确保溶液覆盖孔的底面
	预热时间和温度不正确	确保孵育时间和温度是正确的按照操作手册来设置的
	起始材料较少	确保注入到孔中的阳性对照 (>1ng) 和样本量 (>100ng) 充足
	不正确的吸光读数	检查是否采用合适的荧光波段 (450 nm)
	组件没有存储或得到适当的处理	确认所有的组件是被恰当的温度储存，并在每次使用完溶液后，须将瓶盖拧紧。
仅阳性对照无信号或微弱信号	在第 3c 步中阳性对照加入量不够	确保注入了足够的阳性对照
	组件 HC5 因不恰当的储存而降解	组件 HC5 阳性对照确保按照本操作手册中第 3 步的运输与储存条件

阴性对照中存在高背景	洗脱不净	检查是否严格按照操作手册中的每一步进行的实验
	阳性对照或样品 DNA 被污染	在加入样本或阳性对照时,确保孔不被污染或意外地使用污染的吸头,
	孵育时间太长	在第 <b>3d</b> 步时的孵育时间不应超过 2 小时
	荧光信号过强	在第 <b>5b</b> 步加入 <b>HC10(终止液)</b> 前,减少在第 <b>5a</b> 步中的增强液的时间

### 订购信息

货号	品名	规格
A-P-1036-48	DNA 羟甲基化定量检测试剂盒 (比色法)	48 次
A-P-1036-96		96 次

### 推荐产品

#### DNA 样本的制备

货号	品名
A-D1801	全基因组 DNA 极速提取试剂盒 (离心柱)
A-D1901	细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱)
A-D3111	新型极速植物基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱)
A-D6201	酵母基因组 DNA 试剂盒 (离心柱)
A-D7111	石蜡包埋组织基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱)

#### 全基因组/特定基因 DNA 甲基化定量试剂盒

货号	品名
A-P-1026	DNA 甲基化极速修饰试剂盒
A-P-1028	Methylamp™ MS-qPCR 试剂盒
A-P-1029	EpiQuick™ Quantitative PCR Fast Kit
A-P-1034	DNA 甲基化定量检测试剂盒(比色法)
A-P-1035	DNA 甲基化定量检测试剂盒(荧光法)
A-P-1037	DNA 羟甲基化定量检测试剂盒(荧光法)

## 其它产品

货号	品名
A-R1201	A&D TRIpure 高纯总 RNA 快速提取试剂盒（离心柱型）
A-R4001	A&D 血液总 RNA 快速提取试剂盒（液体样本,离心柱型）
A-R3301	A&D 通用植物总 RNA 提取试剂盒（离心柱型）
A-R5901	A&D 血液（液体样本）microRNA快速提取试剂盒（柱型）
A-R5311	A&D 石蜡包埋组织 microRNA 快速提取试剂盒（柱型）

## 如何下单

1. 电话，传真或邮件订购:

电话：010—52406250； 传真：010—52406250；

邮件：[ordering@aderr.com](mailto:ordering@aderr.com)

2. 在线定单订购:

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1771&t=1474>

## 推荐阅读

1. “新四大碱基”的确定，对于生物学研究者的几点启示!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=2566&t=3623&id=21290>

2. 科学家发现新型 DNA-microDNA!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=20763>

3. 艾德科技为您提供“一站式”的产品与服务!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=20739>