

EpiTect® Plus Bisulfite Conversion プロトコールとトラブルシューティング

メチル化解析のため最適化された Bisulfite 法による
完全な DNA 変換およびクリーンアップ
FFPE 組織、血液、培養細胞、組織サンプルから



目次

プロトコール

DNA 中の非メチル化シトシンを Sodium Bisulfite 処理により変換 3

FFPE 組織サンプルの溶解とこれらのサンプルから分離した DNA 中の
非メチル化シトシンを Sodium Bisulfite 処理により変換 7

全血、培養細胞、組織サンプルの溶解とこれらのサンプルから分離した
DNA 中の非メチル化シトシンを Sodium Bisulfite 処理により変換 10

トラブルシューティング 13

プロトコール: DNA 中の非メチル化シトシンを **Sodium Bisulfite** 処理により変換

本プロトコールにより、最高 20 μl のスタートサンプル量で 1 ng ~ 2 μg の DNA (高濃度) を、もしくは最高 40 μl のスタートサンプル量で 1 ng ~ 500 ng の DNA (低濃度) を処理できます。高濃度あるいは低濃度の DNA 溶液の Bisulfite 変換では、Bisulfite 反応のセットアップのみが異なります(4 ページの表 2)。その他のプロトコール・ステップはすべて同じです。

実験を始める前の重要事項

- Bisulfite Mix チューブ溶液 1 本で 8 回分の反応に使用できます。サンプル数が 8 サンプルより少ない場合には、残った Bisulfite Mix を -20°C で最長 4 週間保存できます。品質の劣化はありません。
- DNA Protect Buffer を DNA・Bisulfite Mix に添加混和後、溶液の色は緑色から青色に変わります。このことは溶液が Bisulfite 変換反応のために十分混和され、適切な pH 値であることを示しています。
- すべての遠心操作は室温 ($15 \sim 25^{\circ}\text{C}$) で行ないます。

実験開始前の準備事項

- 英語版 Handbook 19 ページ、“Preparation of reagents” の記載に従ってキット試薬を調製します。
- サンプルとバッファーを室温に戻します。
- オプション: Bisulfite Mix を溶解するために、サーモミキサー、ヒートブロックあるいはインキュベーターを 60°C にセットします。

操作手順

Bisulfite 反応による DNA 変換

1. **Bisulfite 反応で用いる DNA サンプルを解凍する。必要な本数の Bisulfite Mix に、Bisulfite Mix 1 本あたり 800 μl の RNase フリー水を添加し、溶解する。Bisulfite Mix が完全に溶解するまでボルテックスする。最長 5 分間行なう。**

注: 必要に応じて Bisulfite Mix・RNase フリー水を 60°C に加熱してもう一度ボルテックスします。

注: 溶解後、Bisulfite Mix を氷上に置かないでください。

2. **表 2 に従って PCR チューブ (200 μl 、別途準備) に Bisulfite 反応液をセットアップする。記載されている順番で各成分を添加する。**

注: DNA 溶液と RNase フリー水を合わせた容量は高濃度 DNA 溶液で 20 μl 、低濃度 DNA 溶液で 40 μl にします。

表 2. Bisulfite 反応成分

成分	高濃度 DNA 溶液 (1 ng ~ 2 µg) 反応あたりの容量 (µl)	低濃度 DNA 溶液 (1 ~ 500 ng) 反応あたりの容量 (µl)
DNA 溶液	適量 * (最大 20 µl)	適量† (最大 40 µl)
RNase フリー水	適量 *	適量†
Bisulfite Mix (溶解済み)、 ステップ 1 参照	85	85
DNA Protect Buffer	35	15
トータル容量	140	140

* DNA 溶液と RNase フリー水を合わせて 20 µl にします。

† DNA 溶液と RNase フリー水を合わせて 40 µl にします。

3. PCR チューブの蓋を閉め、Bisulfite 反応液を完全に混和する。チューブを室温 (15 ~ 25°C) で保存する。

注：DNA Protect Buffer を DNA・Bisulfite Mix に添加混和後、溶液の色は緑色から青色に変わります。このことは溶液が Bisulfite 変換反応のために充分混和され、適切な pH 値であることを示しています。

4. サーマルサイクラーを用いて Bisulfite 反応による DNA 変換を行なう。表 3 に従ってサーマルサイクラーをプログラムする。

この反応を行なうためには約 5 時間必要です。

注：反応容量 140 µl を設定できないサーマルサイクラーをご使用になる場合は、設定可能な最大反応液量に設定します。

表 3. Bisulfite 変換反応に用いるサーマルサイクラー条件

ステップ	時間	温度
変性	5 分	95℃
インキュベーション	25 分	60℃
変性	5 分	95℃
インキュベーション	85 分 (1 時間 25 分)	60℃
変性	5 分	95℃
インキュベーション	175 分 (2 時間 55 分)	60℃
保持	不定 *	20℃

* 変換 DNA はサーマルサイクラー中に一晩放置しても品質は変わりません。

5. **Bisulfite 反応成分の入った PCR チューブをサーマルサイクラーにセットする。サーマルサイクラーでインキュベーションを開始する。**

重要： Bisulfite 反応液にはミネラルオイルを重層しないので、この操作では加熱蓋つきのサーマルサイクラーを必ず使用してください。蓋を固く閉められる PCR チューブを使用することが重要です。

変換 DNA はサーマルサイクラー中に一晩放置しても品質は変わりません。

Bisulfite 変換した DNA のクリーンアップ

6. **Bisulfite 反応による変換が完了後、Bisulfite 反応液を含む PCR チューブをスピンドウンして、新しいマイクロ遠心チューブ (1.5 ml) に Bisulfite 反応液をすべて移す。**

溶液中の沈殿物の混入は反応のパフォーマンスや収量には影響しません。

7. **10 µg/ml のキャリア RNA を含む新しく調製した Buffer BL 310 µl を、各サンプルに加える (英語版 Handbook 19 ページの “Preparation of reagents” を参照)。ボルテックスで混和後スピンドウンする。**

注：100 ng より多い DNA を使用する際にはキャリア RNA は必要ありません。

8. **250 µl のエタノール (96 ~ 100%) を各サンプルに添加する。15 秒間パルスボルテックスにより混和後、チューブの蓋についた液滴をスピンドウンする。**
9. **必要な数の MinElute® DNA スピнкаラムとコレクションチューブをラックにセットする。ステップ 8 の各チューブから全反応液を、相当する MinElute DNA スピнкаラムにアプライする。**

10. スピнкаラムを最高速度で1分間遠心操作し、フロースルー液を棄て、スピнкаラムをコレクションチューブに戻す。
11. 500 μ l の Buffer BW (洗浄バッファー) を各スピнкаラムに添加し、最高速度で1分間遠心操作する。フロースルー液を棄て、スピнкаラムをコレクションチューブに戻す。
12. 500 μ l の Buffer BD (脱スルホン化バッファー) を各スピнкаラムに添加し、室温 (15 ~ 25°C) で15分間インキュベートする。
Buffer BD 中に沈殿物がある場合には、それらをスピнкаラムにアプライしないでください。
重要：空気中の CO₂ を吸収して酸性になるのを防止するため、Buffer BD の入った容器は使用后、直ちに蓋をしてください。
注：インキュベーションの前にスピнкаラムの蓋を閉じることが重要です。
13. スピнкаラムを最高速度で1分間遠心操作し、フロースルー液を棄て、スピнкаラムをコレクションチューブに戻す。
14. 500 μ l の Buffer BW を各スピнкаラムに添加し、最高速度で1分間遠心操作する。フロースルー液を棄て、スピнкаラムをコレクションチューブに戻す。
15. ステップ14を繰り返す。
16. 250 μ l のエタノール (96 ~ 100%) を各スピнкаラムに添加し、最高速度で1分間遠心操作する。
17. スピнкаラムを新しい2 ml のコレクションチューブにセットし、最高速度で1分間遠心操作して残存している液体を除去する。
代替操作：蓋を開いたスピнкаラムを新しい1.5 ml マイクロチューブ (別途準備) に移し、ヒートブロックで60°C、5分間インキュベートします。このステップにより残っている液体が蒸発します。
18. 新しい1.5 ml のマイクロ遠心チューブ (別途準備) にスピнкаラムをセットする。15 μ l の Buffer EB (溶出バッファー) を各スピнкаラム・メンブレンに直接添加し、カラムの蓋を静かに閉める。
19. スピнкаラムを室温で1分間インキュベートする。
20. 15,000 x g (12,000 rpm) で1分間遠心操作を行ない、DNA を溶出する。
注：より高濃度の DNA が必要な場合には、10 μ l の Buffer EB を使用できますが、収量は約20%低下します。スピнкаラム・メンブレンが十分に水和できないため、10 μ l 未満の Buffer EB で溶出ししないでください。
注：精製した DNA を24時間以内に使用する場合は、2 ~ 8°C で保存することを推奨します。24時間以上保存する場合には、-20°C で保存することを推奨します。

プロトコール：FFPE 組織サンプルの溶解とこれらのサンプルから分離した DNA 中の非メチル化シトシンを Sodium Bisulfite 処理により変換

本プロトコールは、EpiTect Plus FFPE Bisulfite Kit を用いてホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE；formalin-fixed、paraffinembedded）組織切片からの DNA 処理用にデザインされています。

実験を始める前の重要事項

- スライド上の FFPE サンプルを使用する場合は、スライドから FFPE 切片を削り取ってステップ 1 に進みます。
- Deparaffinization Solution は 18℃ 以下の温度で凝固します。30℃ でインキュベートして融解してください。
- Lysis Buffer FTB で沈殿が生じることがあります。すべての沈殿物が 30℃ で溶解されていることを確認してください。
- Bisulfite Mix チューブ溶液 1 本で 8 回分の反応に使用できます。サンプル数が 8 サンプルより少ない場合には、残った Bisulfite Mix を -20℃ で最長 4 週間保存できます。品質の劣化はありません。
- DNA Protect Buffer を DNA・Bisulfite Mix に添加混和後、溶液の色は緑色から青色に変わります。このことは溶液が Bisulfite 変換反応のために十分混和され、適切な pH 値であることを示しています。
- すべての遠心操作は室温（15～25℃）で行ないます。

実験開始前の準備事項

- 英語版 Handbook 19 ページ、“Preparation of reagents” の記載に従ってキット試薬を調製します。
- サンプルとバッファーを室温に戻します。
- オプション：1.5 ml チューブで FFPE 組織切片の脱パラフィン、溶解、クロスリンク切断を行なう（ステップ 1 参照）際には、ヒートブロックを 56℃ にセットします。
- オプション：Bisulfite Mix を溶解するために、サーモミキサー、ヒートブロックあるいはインキュベーターを 60℃ にセットします。

操作手順

FFPE 切片の溶解

1. 200 μ l の反応チューブあるいは 8 連ウェル（別途準備）に FFPE 切片（10 μ m）を 1 枚入れて 150 μ l の Deparaffinization Solution を添加する。

代替操作：1.5 ml チューブ（別途準備）で FFPE 組織切片の脱パラフィン、溶解、クロスリンクの切断を行なえます（ステップ 1～5）。

2. パラフィンが完全に溶解するまでチューブを指で軽く叩くあるいはボルテックスする。
3. **20 μ l** の蒸留水、**15 μ l** の Lysis Buffer FTB、**5 μ l** の Proteinase K を添加する。
注：蒸留水、Lysis Buffer FTB、Proteinase K からなるマスターミックスをあらかじめ調製することも可能です。
4. サンプルをボルテックス後スピンドウンする。
注：Deparaffinization Solution は Lysis Buffer FTB と Proteinase K の上に層を形成します。
5. サーマルサイクラーを用いて溶解とクロスリンク切断を行なう。表 4 に従ってサーマルサイクラーをプログラムする。
代替操作：1.5 ml チューブを用いた場合には、ヒートブロックで溶解とクロスリンク切断を行ないます。56℃にセットしたヒートブロック上でチューブを 30 分間インキュベートして、組織を溶解します。組織が完全に溶解したことを確認します；溶解していない場合は、チューブを 56℃でさらに 30 分間インキュベートします。組織が完全に溶解したら、ヒートブロックの温度を 95℃に上げ、クロスリンク切断ステップのために 95℃で 60 分間インキュベートします。サンプルを室温（15 ~ 25℃）で保管します。速やかに Bisulfite 変換を行ないます。

表 4. 溶解用サーマルサイクラー条件

ステップ	時間	温度
溶解	30 分 *	56℃
クロスリンク切断	60 分	95℃

* 組織が完全に溶解していることを確認してください；溶解していない場合はさらに溶解ステップ（56℃で 30 分間）を追加します。

6. 溶解反応液の入った PCR チューブをサーマルサイクラーにセットする。サーマルサイクラーでインキュベーションを開始する。
注：サンプルは室温（15 ~ 25℃）で保管します。速やかに Bisulfite 変換を行ないます。

Bisulfite 反応による DNA 変換

7. 必要な本数の Bisulfite Mix に、Bisulfite Mix 溶液 1 本あたり RNase フリー水 **800 μ l** を添加し、溶解する。Bisulfite mix が完全に溶解するまでボルテックスする。最長 5 分間行なう。
注：必要に応じて Bisulfite Mix ・ RNase フリー水を 60℃に加熱してもう一度ボルテックスします。
注：溶解後、Bisulfite Mix を氷上に置かないでください。

8. 溶解反応液から Deparaffinization Solution (約 130 µl) を除去する。

溶解サンプルに触れないようにしてできるだけ多くの Deparaffinization Solution を除去して、Bisulfite 反応成分 (表 5) を添加するための十分なスペースをあけてください。

注：残留した少量の Deparaffinization Solution は Bisulfite 反応を妨害しません。

9. 表 5 に従って試薬を添加して Bisulfite 反応液をセットアップする。記載されている順番で各成分を添加する。

代替操作：1.5 ml チューブを用いて脱パラフィン、溶解、クロスリンク切断を行なった場合は、ステップ 8 で残った溶解反応液を 200 µl チューブに入れます。表 5 に記載されている順番に試薬を 200 µl チューブに入れます。

表 5. Bisulfite 反応成分

成分	容量/反応 (µl)
溶解反応液	約 40
Bisulfite Mix (溶解済み)、ステップ 7 参照	85
DNA Protect Buffer	15
トータル容量	140

10. DNA の Bisulfite 変換を行なうために、4 ページのプロトコール “DNA 中の非メチル化シトシンを Sodium Bisulfite 処理により変換”のステップ 3 を開始する。

プロトコール：全血、培養細胞、組織サンプルの溶解とこれらのサンプルから分離した DNA 中の非メチル化シトシンを Sodium Bisulfite 処理により変換

本プロトコールは、EpiTect Plus LyseAll Kit を用いて全血、培養細胞、組織サンプルからの DNA 処理用にデザインされています。

実験を始める前の重要事項

- Lysis Buffer FTB で沈殿が生じることがあります。すべての沈殿物が 30℃ で溶解していることを確認してください。
- Bisulfite Mix チューブ溶液 1 本で 8 回分の反応に使用できます。サンプル数が 8 サンプルより少ない場合には、残った Bisulfite Mix を -20℃ で最長 4 週間保存できます。品質の劣化はありません。
- DNA Protect Buffer を DNA・Bisulfite Mix に添加混和後、溶液の色は緑色から青色に変わります。このことは溶液が Bisulfite 変換反応のために十分混和され、適切な pH 値であることを示しています。
- すべての遠心操作は室温（15 ~ 25℃）で行ないます。

実験開始前の準備事項

- 英語版 Handbook 19 ページ、“Preparation of reagents” の記載に従ってキット試薬を調製します。
- サンプルとバッファーを室温に戻します。
- オプション：Bisulfite Mix を溶解するために、サーモミキサー、ヒートブロックあるいはインキュベーターを 60℃ にセットします。

操作手順

サンプル溶解

1. 全血はステップ 2 ~ 11、培養細胞はステップ 12 ~ 17、組織サンプルはステップ 18 ~ 22 の操作を行なう。
2. 血液サンプル（20 μ l まで）を Buffer EL で 20 倍に希釈する（例えば 19 μ l の Buffer EL を 1 μ l の血液に加える）。
3. 室温（15 ~ 25℃）で 10 ~ 15 分間インキュベートする。
注：インキュベーション中に数回チューブを転倒混和します。
4. 最高速度で 5 分間遠心操作を行なう。
5. 上清を棄て、さらに 125 μ l Buffer EL を添加する。
上清を除去する際に血液細胞ペレットを剥がさないように注意します。
6. 最高速度で 1 分間遠心操作を行ない、上清を棄てる。

7. ペレットを 10 μ l の PBS で再懸濁して、200 μ l 反応チューブあるいは 8 連ウェル（別途準備）に移す。
重要：Lysis Buffer FTB の沈殿を引き起こす可能性があるので組織を氷上で保冷しないでください。
8. 10 μ l の蒸留水、15 μ l の Lysis Buffer FTB、5 μ l の Proteinase K を添加する。
注：蒸留水、Lysis Buffer FTB、Proteinase K からなるマスターミックスをあらかじめ調製することも可能です。
9. サンプルをボルテックス後スピンドウンする。
10. サンプルを 56°C で 30 分間インキュベートする。
11. 速やかにステップ 23 の Bisulfite 変換を行なう。
注：サンプルは室温（15 ~ 25°C）で保管します。
12. 常法に従い細胞を回収する。
13. 10 μ l の PBS で細胞を再懸濁する。
注：10 μ l の PBS あたり最高 1×10^5 個までの細胞を使用してください。
重要：Lysis Buffer FTB の沈殿を引き起こす可能性があるので細胞を氷上で保冷しないでください。
14. 10 μ l の蒸留水、15 μ l の Lysis Buffer FTB、5 μ l の Proteinase K を添加する。
注：蒸留水、Lysis Buffer FTB、Proteinase K からなるマスターミックスをあらかじめ調製することも可能です。
15. サンプルをボルテックス後スピンドウンする。
16. サンプルを 56°C で 30 分間インキュベートする。
17. 速やかにステップ 23 の Bisulfite 変換を行なう。
注：サンプルは室温（15 ~ 25°C）で保管します。
18. 20 μ l の蒸留水を組織サンプルに添加する。
注：20 μ l の蒸留水あたり 100 μ g までの組織を使用してください。
重要：Lysis Buffer FTB の沈殿を引き起こす可能性があるので組織を氷上で保冷しないでください。
19. 15 μ l の Lysis Buffer FTB と 5 μ l の Proteinase K を添加する。
注：Lysis Buffer FTB と Proteinase K からなるマスターミックスをあらかじめ調製することも可能です。
20. サンプルをボルテックス後スピンドウンする。
21. サンプルを 56°C で 30 分間インキュベートする。
22. 速やかにステップ 23 の Bisulfite 変換を行なう。
注：サンプルは室温（15 ~ 25°C）で保管します。

Bisulfite 変換

23. 必要な本数の Bisulfite Mix に、Bisulfite Mix 溶液 1 本あたり RNase フリー水 800 μ l を添加し、溶解する。Bisulfite mix が完全に溶解するまでボルテックスする。最長 5 分間行なう。

注：必要に応じて Bisulfite Mix ・ RNase フリー水を 60℃ に加熱してもう一度ボルテックスします。

注：溶解後、Bisulfite Mix を氷上に置かないでください。

24. 表 6 に従って PCR チューブ（200 μ l、別途準備）に Bisulfite 反応液をセットアップする。記載されている順番で各成分を添加する。

表 6. Bisulfite 反応成分

成分	容量／反応 (μ l)
溶解反応液	40
Bisulfite Mix（溶解済み）、ステップ 23 参照	85
DNA Protect Buffer	15
トータル容量	140

25. DNA の Bisulfite 変換を行なうために、4 ページのプロトコール “DNA 中の非メチル化シトシンを Sodium Bisulfite 処理により変換” のステップ 3 を開始する。

トラブルシューティング

コメント

脱パラフィン化が不完全

- a) 脱パラフィンの時間が不十分 パラフィンが溶解するまでサンプルを Deparaffinization Solution 中でボルテックスする。
- b) Deparaffinization Solution が組織切片に浸透していない 組織切片に Deparaffinization Solution が均一に浸透するようにボルテックスと転倒混和を行なう。

溶解が不完全

- a) FFPE 組織切片が脱パラフィンされていない Lysis Buffer FTB と Proteinase K を添加する前に、パラフィンが完全に溶解されていることを確認する。
- b) Lysis Buffer FTB と Proteinase K がサンプルに浸透していない 溶解試薬が組織を覆っていることを確認する（組織が蓋に付着していないなど）。きれいなピペットチップを使って組織を溶液中に沈める。
- c) 溶解時間が不十分 56℃でさらに 30 分間サンプルをインキュベートする。
- d) 溶解反応のセットアップが正しくない 7 ページ（FFPE 切片）あるいは 10 ページ（全血、培養細胞、組織）に記載されているように、溶解反応に必要な成分をすべて添加したことを確認する。

精製ステップで DNA 収量が少ないか皆無

- a) キャリア RNA を Buffer BL に添加していない 英語版 Handbook 19 ページの “Preparation of reagents” に記載されているようにキャリア RNA を調製し、Buffer BL に加える。
- b) Buffer BW あるいは BD の調製が不正確 Buffer BW および BD 濃縮液を正確な量のエタノール（96～100%）で希釈したことを確認。メタノールやメチルエチルケトンのような物質を含んだ変性アルコールは使用しない。
- c) 70%エタノールで Buffer BW あるいは BD を調製 Buffer BW および BD 濃縮液を 96～100%のエタノールで希釈したことを確認。メタノールやメチルエチルケトンのような物質を含んだ変性アルコールは使用しない。

コメント

- | | |
|--------------------------------|--|
| d) Buffer BW および BD を間違った順序で使用 | Buffer BW および BD がプロトコール記載の正しい順序で使用されていることを確認する。 |
| e) サンプルがメンブレンを完全に通過していない | 最高速度で 1 分間、あるいはサンプルが完全にメンブレンを通過するまで遠心操作する。 |
| f) Buffer BL が沈殿物を形成 | Buffer BL が沈殿物を形成しているかチェックする。最高 70°C に加熱し静かに攪拌することにより沈殿物を溶解する。 |

変換率が低い

- | | |
|----------------------------------|---|
| a) Bisulfite 反応成分が正しい順番で添加されていない | 表 2 (4 ページ)、表 5 (9 ページ)、表 6 (12 ページ) に記載されている順番に DNA、Bisulfite Mix、DNA Protect Buffer を添加したことを確認する。 |
| b) 使用したサーマルサイクラーの条件が間違っている | 表 3 (5 ページ) に記載されているサーマルサイクラーの条件を用いる。 |
| c) DNA の品質が悪い (例: タンパク質が混入) | サンプル DNA の A_{260}/A_{280} 比が 1.7 ~ 1.9 にあることを確認する。 |
| d) 使用した DNA 量が推奨する範囲外にある | 精製した DNA が 1 ng ~ 2 µg になるようにスタートサンプル量を調節する。FFPE サンプル、細胞、組織、血液に関しては、英語版 Handbook 15 ページに記載されているサンプル量を参照。 |
| e) Bisulfite Mix が適切に保存されていない | 溶解した Bisulfite Mix は -20°C で 4 週間保存可能。 |
| f) CpG 配列が非常に多い特殊な CpG 領域が存在する | 以下のステップを増やして、Bisulfite 変換反応に用いるサーマルサイクラー条件を延長する: 95°C で 5 分間の変性と 60°C で 2 時間; その後 20°C に保つ。 |
| g) DNA Protect Buffer を添加していない | DNA Protect Buffer を添加混和後、DNA・Bisulfite Mix 溶液は緑色から青色に変わる。このことは溶液が十分に混和され、DNA が MinElute DNA スピニングカラムに結合する適切な pH 値であることを示す。変色しない場合は、DNA Protect Buffer を添加したことを確認して、反応をもう一度行なう。 |

コメント

ダウンストリーム PCR アプリケーションで良い結果が得られない

- a) コントロールの反応でも PCR 産物が皆無あるいはほとんどない
- ホットスタート PCR を行なった場合は、最初に酵素の活性化ステップを行なったことを確認する。
- PCR 反応成分をすべて添加し、最適なサイクリング条件を用いたことを確認する。
- b) Bisulfite 変換反応が失敗
- スタートサンプルの DNA 純度が十分でない。Bisulfite 変換反応には高品質の DNA のみを使用する。
- Bisulfite 変換およびクリーンアップ・プロトコールの全ステップを行なったことを確認する。
- Bisulfite 変換反応の前にサンプル DNA が分解しないように、サンプル DNA の取り扱い・保存は適切に行なう。
- PCR プライマーが適切あるいは正確にデザインされていないかった。プライマーデザインを再考する。
- PCR で用いたテンプレート DNA 量が不十分であれば、テンプレート DNA の量を増やす。

バッファーに予期しない変化

- a) DNA Protect Buffer が保存中に明るい緑色からオリーブ色に変わった
- DNA Protect Buffer は 2 ~ 8°C で 1 年間安定。この期間内での変色はバッファーの品質に影響しない。
- b) Buffer BD が沈殿を形成
- Buffer BD の保存中にわずかな濁りあるいは不溶性の沈殿が生じることがある。
- Buffer BD は室温 2 ~ 8°C で 1 年間安定。この期間内での沈殿物はバッファーの品質に影響しない。沈殿物をスピнкаラム・メンブレンにアプライしない。

Trademarks: QIAGEN®, EpiTect®, MinElute® (QIAGEN Group).

The EpiTect Plus DNA Bisulfite Kit, EpiTect Plus FFPE Kit, and EpiTect Plus LyseAll Bisulfite Kit are developed, designed, and sold for research purposes only. They are not to be used for human diagnostic or drug purposes or to be administered to humans. All due care and attention should be exercised in the handling of many of the materials described in this text.

本文に記載の会社名および商品名は、各社の商標または登録商標です。

記載の QIAGEN 製品は研究用です。疾病の診断、治療または予防の目的には使用することはできません。

© 2010 QIAGEN, all rights reserved.

www.qiagen.co.jp

株式会社 キアゲン ■ 〒 104-0054 ■ 東京都中央区勝どき 3-13-1 ■ Forefront Tower II

Tel: 03-6890-7300 ■ Fax: 03-5547-0818 ■ E-mail: techservice-jp@qiagen.com

