

甲基化检测样本前处理试剂盒（金典版）

（使用说明书 Ver.1.1.1）

产品说明

- ✧ 用于核酸的亚硫酸氢盐转化修饰、提取、富集、纯化步骤。其处理后的产物用于临床基因检测。

产品货号：

JSR505-10（10次反应） JSR505-50（50次反应）

JSR505-100（100次反应） JSR505-200（200次反应）



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
储存条件	1
样品要求	1
试剂制备	2
操作步骤	2
组件查询	3

产品组份

试剂盒组成	10次反应	50次反应	100次反应	200次反应	保存
亚硫酸氢盐干粉	10反应×1个	10反应×5个	10反应×10个	10反应×20个	室温
稀释缓冲液	400μl	1.5ml	3.5ml	7ml	室温
溶解缓冲液	60μl	500μl	1ml	1.2ml	室温
结合液	7ml	30ml	65ml	125ml	室温
洗涤液 (未添加乙醇)	2ml	6ml	12ml	24ml	室温
脱硫液	3ml	10ml	20ml	40ml	室温
洗脱液	1ml	1ml	1ml×2	4ml	室温
1号C纯化柱	10个	50个	50个×2	50个×4	室温
收集管	10个	50个	50个×2	200个	室温

注意事项

- ✧ 此产品仅供研究使用，并应由专业人员操作。
- ✧ 试剂盒中包含的一些试剂是刺激物，请带好手套和防护眼镜。
- ✧ 售出后一年内产品可质保，试剂盒已经过大量的常规检测来保证其可操作性。
- ✧ DNA纯度需满足Abs 260/280在1.8~2.0之间，否则会影响转化效率。
- ✧ DNA量大于20μl需要分管操作。
- ✧ 推荐后续使用热启动Taq DNA聚合酶进行扩增。

储存条件

- ✧ 产品应贮存在室温环境中。

样品要求

血浆、组织、粪便、细胞、血液等样本提取的基因组DNA，核酸内切酶消化的DNA，线性化的质粒DNA等。每次转化DNA 量在500 pg~2 μg范围之间，最佳量为200ng~500 ng。

试剂制备

1. 亚硫酸氢盐转化试剂制备

本试剂盒中提供的转化试剂是一种固体混合物，必须在首次使用前制备好。制备方法如下：

- 1) 在亚硫酸氢盐干粉中加入900 μ l无菌水、300 μ l稀释缓冲液和50 μ l溶解缓冲液。
- 2) 室温下涡旋震荡直至全部溶解。

注意：在转化试剂中看到微量的未溶解的试剂是正常现象。每管转化试剂可用10次的DNA处理。转化试剂对光敏感，所以要尽量减少其暴露在光线下。为获得最佳效果，转化试剂应在制备后立即使用。如果不立即使用，转化试剂溶液可以在室温下存储过夜，在4 $^{\circ}$ C存储一周，或在-20 $^{\circ}$ C存储1个月。使用前，将冻存的转化试剂溶液在37 $^{\circ}$ C下迅速解冻，涡旋充分混匀。

2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在洗涤液中加入无水乙醇，加入后请及时在方框打钩标记，以免多次加入。

- 1) 添加8ml无水乙醇到2ml的洗涤液中（JSR505-10）。
- 2) 添加24ml无水乙醇到6ml的洗涤液中（JSR505-50）。
- 3) 添加48ml无水乙醇到12ml的洗涤液中（JSR505-100）。
- 4) 添加96ml无水乙醇到24ml的洗涤液中（JSR505-200）。

操作步骤

1. 取130 μ l亚硫酸氢盐转化液加入含有20 μ l DNA样品的PCR管中混匀，短暂离心确保管盖和管壁上没有残留液体。

注意：如果DNA的体积小于20 μ l，则需要用水补足至20 μ l。对于DNA体积大于20 μ l，在制备转化试剂时需要进行调整，DNA样品量每增加10 μ l，水的用量就减少100 μ l。例如，对于40 μ l的DNA样品，需加入700 μ l的无菌水来制备转化试剂。加入到样品中的转化试剂的体积也必须随着样品的增加而减少相同的体积，总反应体积仍为150 μ l，每个转化反应的最大DNA样品量为50 μ l。请不要调整溶解缓冲液或稀释缓冲液的用量。

2. 把上述PCR管置于PCR仪器上运行以下程序：

- (1) 98 $^{\circ}$ C 10 minutes
- (2) 64 $^{\circ}$ C 2.5 hours
- (3) 4 $^{\circ}$ C 20h（可选）

3. 将1号C纯化柱套在收集管中，添加600 μ l的结合液至1号C纯化柱中。

4. 将步骤2中的全部反应液直接添加到1号C纯化柱中与结合液混匀，盖盖后颠倒混匀纯化柱。

5. 在 $\geq 10,000 \times g$ 离心1分钟，弃滤液。

6. 添加100 μ l制备好的洗涤液到1号C纯化柱中， $\geq 10,000 \times g$ 离心1分钟。

7. 添加200μl脱硫液到1号C纯化柱中，室温（20~30℃）放置15-20分钟，在≥10，000 x g 离心1分钟。
 8. 添加200μl制备好的洗涤液到1号C纯化柱中，在≥10，000 x g 离心1分钟。
 9. 重复步骤8。
 10. 将1号C纯化柱转移至一个干净的1.5ml离心管中，吸取10μl洗脱液直接加入到柱基质中。室温放置3-5分钟后全速离心1分钟洗脱DNA。
- 注：DNA可以立即进行分析，也可以在-20℃或更低温度下（-80℃）储存以备后用。我们建议每次PCR使用 1-4μl洗脱的DNA，最多可以使用10μl。
- 洗脱体积可以>10μl，具体取决于您的实验要求，但较小的洗脱体积会产生更高的DNA浓度。

组件查询

组件名称	货号	规格	保存
亚硫酸氢盐干粉	TD5003-1	15ml	室温
稀释缓冲液	TD5005-2-0.4	400μl	室温
	TD5005-2-1.5	1.5ml	
	TD5005-2-3.5	3.5ml	
	TD5005-2-7	7ml	
溶解缓冲液	TD5005-6-0.06	60μl	室温
	TD5005-6-0.5	500μl	
	TD5005-6-1	1ml	
	TD5005-6-1.2	1.2ml	
结合液	TD5005-3-7	7ml	室温
	TD5005-3-30	30ml	
	TD5005-3-65	65ml	
	TD5005-3-125	125ml	
洗涤液（未添加乙醇）	TD5001-4-2	2ml	室温
	TD5001-4-6	6ml	
	TD5001-4-12	12ml	
	TD5001-4-24	24ml	
脱硫液	TD5001-5-3	3ml	室温

	TD5001-5-10	10ml	
	TD5001-5-20	20ml	
	TD5001-5-40	40ml	
洗脱液	TD5001-6-1	1ml	室温
	TD5001-6-4	4ml	
1号C纯化柱	TC1004-10	10个/包	室温
	TC1004-50	50个/包	
2ml收集管	TC1001-10	10个	室温
	TC1001-50	50个	
	TC1001-200	200个	