

# Hieff<sup>®</sup> Mag Superfast DNA Methylation Bisulfite Kit

## 超快速 DNA 亚硫酸氢盐转化试剂盒（磁珠法）

### 产品简介

Hieff<sup>®</sup> Mag Superfast DNA Methylation Bisulfite Kit 超快速 DNA 亚硫酸氢盐转化试剂盒（磁珠法）可以快速地将 DNA 样品中的未甲基化胞嘧啶转化成尿嘧啶而甲基化胞嘧啶维持不变，双链 DNA 经过高温亚硫酸氢盐处理后，双链 DNA 解链变成单链，在 HSO<sub>3</sub><sup>-</sup> 作用下，导致胞嘧啶残基发生脱氨基反应并将它们转化为尿嘧啶，甲基化修饰的残基保持不变。进而在后续 PCR 扩增过程中，尿嘧啶会被胸腺嘧啶(T)取代。DNA 投入量范围 100 pg-2 μg；未甲基化的胞嘧啶转化效率≥99%。转化后的产物适用于 PCR 扩增和 NGS 测序等下游应用。

### 产品信息

货号	12227ES10/12227ES50
规格	10 T/ 50 T

### 组分信息

组分编号	组分名称	12227ES10	12227ES50
12227-A	转化液	1.0 mL/管×2	1.5 mL/管×7
12227-B	结合液	6.5 mL/瓶×1	32 mL/瓶×1
12227-C	脱硫液	2.2 mL/瓶×1	12 mL/瓶×1
12227-D	洗涤液	2.5 mL/瓶×1	12.5 mL/瓶×1
12227-E	洗脱液	1 mL/管×1	5 mL/瓶×1
12227-F	磁珠悬浮液	0.12 mL/管×1	0.6 mL/管×1

【注】：10T：使用前洗涤液（12227-D）每瓶需加入 10 mL 无水乙醇；

50T：使用前洗涤液（12227-D）每瓶需加入 50 mL 无水乙醇；

加入无水乙醇后，颠倒混匀后备用，此时应将瓶盖拧紧，防止乙醇挥发影响试剂使用效果。

### 储存条件

12227-A 转化液室温避光保存，其他组分室温保存，有效期 1 年。

【注】：12227-A 存放温度尽量不要超过 25°C，温度太高会导致晶体析出。

### 注意事项

1. DNA 投入量范围 100 pg-2 μg，最佳投入量为 10 ng-1 μg，过低不利于下游检测，过高可能导致回收率/转化效率降低。
2. 转化液避免反复开盖，多次开盖可能影响转化效果，开盖使用后立即拧紧瓶盖。
3. 洗涤液首次使用时，需按标签注明的体积添加无水乙醇。
4. 洗脱时可能存在磁珠残留，吸取洗脱液时应尽量避免吸入磁珠。
5. 磁珠使用前需要用涡旋混匀器振荡混匀。
6. 需自备无水乙醇。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

8. 本产品仅作科研用途。

## 使用说明

### ● 亚硫酸氢盐转化：

- 1) 根据需要实验的样本数量，准备相应的无菌 PCR 管，并按照下表要求配制反应体系：
- 2) 转化体系

组分	体积
投入 DNA	100 pg-2 μg (补水至 20 μL)
转化液	180 μL
总体积	200 μL

用移液器将上述体系吹打混匀或短暂涡旋混匀 5 s，短暂离心，将反应液离心至 PCR 管底部。

【注】：1. 此时 PCR 管中反应液总体积为 200 μL，为使转化更充分，应在步骤 2) 吹打混匀后，将反应液等分，转移至新的无菌 PCR 管中，运行转化程序。转化结束后，将两个 PCR 管中的反应液合并进行纯化。

2. 如果样本体积在 20-40 μL 之间，则减少转化液的体积，总体积保持 200 μL。
3. 如果样本体积为 50 μL，则转化液加入 150 μL，总体积保持 200 μL，转化时间延长至 6-10 min。

### 3) CT 转化程序设置

温度	时间
98 °C	5 min*
4 °C	∞

将 PCR 管置于预设好程序的 PCR 仪上，进行上述反应。

【注】：根据实验需要，适当延长 1-2 min，转化效率能有所提升。

### ● 转化产物纯化

- 1) 转移转化后的 DNA 溶液到 1.5 mL 离心管中，加入 600 μL 结合液和 10 μL 磁珠，1300~1500 rpm 振荡 30s；
- 2) 室温孵育 5 min 后置于磁力架上进行磁分离至溶液完全澄清，使用枪头小心吸弃上清；
- 3) 向离心管中加入 400 μL 洗涤液，1300~1500 rpm 振荡 30 s，置于磁力架上进行磁分离至溶液完全澄清，轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落，瞬离，吸弃上清液；
- 4) 向离心管中加入 200 μL 脱硫液，1300~1500 rpm 振荡 30 s，室温孵育 15 min，置于磁力架上进行磁分离至溶液完全澄清，轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落，瞬离，吸弃上清液；
- 5) 向离心管中加入 400 μL 洗涤液，1300~1500 rpm 振荡 30 s，置于磁力架上进行磁分离至溶液完全澄清，轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落，瞬离，吸弃上清液，重复本步骤一次；
- 6) 将离心管转移至 55 °C 金属浴孵育 5~10 min，将磁珠完全晾干；

【注】：此步骤非常关键，请务必保证完全干透但磁珠不干裂！

- 7) 加入 35 μL 左右洗脱液到磁珠中，1300~1500 rpm 振荡 30 s 将磁珠重悬于洗脱液中，金属浴 55 °C 加热 5 min 后置于磁力架上进行磁分离，回收上清液（即转化后的 DNA 溶液）；

【注】：ddH<sub>2</sub>O 也可进行洗脱；洗脱体积可根据实验需求相应调整。

- 8) 洗脱的 DNA 溶液可以直接用于下游反应，或者保存于 -20°C 备用。