


Hieff® DNA Bisulfite Conversion Kit

DNA 甲基化亚硫酸氢盐转化试剂盒

1222ES

产品使用说明书

Ver. CN20230614

A large, decorative orange wave graphic that spans the bottom of the page, starting from the left edge and curving upwards and then downwards towards the right edge.

目录

产品简介	1
产品信息	1
组分信息	1
储存条件	1
使用说明	1
注意事项	2

产品简介

Hieff® DNA Bisulfite Conversion Kit 将 DNA 变性与亚硫酸氢盐转化融合为一步，3 小时内即可完成转化；采用柱内脱硫技术，消除了繁琐的 DNA 沉淀步骤，使操作流程更为简单；可以满足 500 pg-2 μg 样品的转化；未甲基化胞嘧啶转化为尿嘧啶的转化率 ≥99.5%；同时，本试剂盒采用独特的 DNA 保护剂组分，使得转化后 DNA 的质量和回收率都有很大的保障。转化后的产物适用于 PCR 扩增和 DNA 测序等下游应用。

产品信息

货号	12222ES10 / 12222ES50 / 12222ES70
规格	10 T / 50 T / 200 T

组分信息

组分编号	组分名称	12222ES10	12222ES50	12222ES70
12222-A	亚硫酸氢盐干粉 Conversion Reagent	10 反应/管	10 反应/管 (5 管)	10 反应/管 (20 管)
12222-B	稀释缓冲液 Dilution Buffer	400 μL /管	1.5 mL/管	7 mL/瓶
12222-C	溶解缓冲液 Dissolving Buffer	60 μL /管	500 μL/管	1.2 mL/管
12222-D	结合液 Binding Buffer	7 mL/瓶	30 mL/瓶	125 mL/瓶
12222-E	洗涤液 Wash Buffer	2 mL/瓶	6 mL/瓶	24 mL/瓶
12222-F	脱硫液 Desulphonation Buffer	3 mL/瓶	10 mL/瓶	40 mL/瓶
12222-G	洗脱液 Elution Buffer	1 mL/管	1 mL/管	4 mL/瓶
12222-H	纯化柱 C1 DNA Column C1	10 个/包	50 个/包	50 个/包 (4 包)
12222-I	收集管 Collection Tube	10 个/包	50 个/包	200 个/包

储存条件

室温保存，有效期 2 年。

使用说明

1. Conversion Reagent Mix 制备

- 1) 在 Conversion Reagent 中加入 900 μL 无菌水、300 μL Dilution Buffer 和 50 μL Dissolving Buffer。
- 2) 室温下涡旋震荡 10 min 左右，直至全部溶解。

【注 1】：制备好的 Conversion Reagent Mix 中可见微量未溶解试剂为正常现象。每管 Conversion Reagent 可处理 10 个样品。Conversion Reagent 对光敏感，尽量减少在光下暴露。推荐现配现用，如不立即使用，配置好的 Conversion Reagent Mix 可在室温 (15~25℃) 储存 24 h，在 4℃ 存储一周，冷冻条件 (-20℃) 储存一个月。使用时需平衡至室温，并涡旋混匀。

【注 2】：第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在 Wash Buffer 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 8 mL 无水乙醇到 2 mL 的 Wash Buffer 中
- 2) 添加 24 mL 无水乙醇到 6 mL 的 Wash Buffer 中
- 3) 添加 96 mL 无水乙醇到 24 mL 的 Wash Buffer 中

2. 亚硫酸氢盐转化

1) 将 Conversion Reagent Mix 平衡至室温，在 200 μL 灭菌 PCR 管中配置如下反应：

组分	体积
Input DNA	X μL (500 μg -2 μg)
Conversion Reagent Mix	130 μL
ddH ₂ O	Up to 150 μL

【注】：对于 DNA 体积 $>20 \mu\text{L}$ ，需要在 Conversion Reagent Mix 制备过程中进行试剂调整，DNA 样品体积每增加 10 μL ，水的量就减少 100 μL 。例如，对于一个 40 μL 的 DNA 样本，制备 Conversion Reagent Mix 需要 700 μL 的水，添加到样品中的 Conversion Reagent Mix 的体积也必须随着样品的增加而减少相同的体积，总反应体积保持 150 μL 。每次转化反应所使用的最大 DNA 样本量为 50 μL ，无需变动 Dilution Buffer 和 Dissolving Buffer 的体积。

2) 上下颠倒或用移液器吹打混匀，并短暂离心将反应液收集至管底。

3) 将 PCR 管置于 PCR 仪中，进行下表反应：

温度	时间
98 $^{\circ}\text{C}$	10 min
64 $^{\circ}\text{C}$	2.5 h
4 $^{\circ}\text{C}$	Hold (<20 h)

3. 转化产物纯化

1) 将 DNA Column C1 套在 Collection Tube 中，添加 600 μL 的 Binding Buffer 至 DNA Column C1 中。

2) 将步骤 2 中的全部反应液直接添加到 DNA Column C1 中与 Binding Buffer 混匀，盖盖后颠倒混匀纯化柱。

3) 在 $\geq 10,000 \times g$ 离心 1 分钟，弃滤液。

4) 加入 100 μL 制备好的 Wash Buffer（使用前请先检查是否已加入无水乙醇）到 DNA Column C1 中， $\geq 10,000 \times g$ 离心 1 分钟。

5) 加入 200 μL Desulphonation Buffer 到 DNA Column C1 中，室温（20~30 $^{\circ}\text{C}$ ）放置 15-20 分钟，在 $\geq 10,000 \times g$ 离心 1 分钟。

6) 加入 200 μL 制备好的 Wash Buffer 到 DNA Column C1 中，在 $\geq 10,000 \times g$ 离心 1 分钟。

7) 重复步骤 6)

8) 将 DNA Column C1 转移至一个干净的 1.5 mL 离心管中，吸取 10 μL Elution Buffer 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 $^{\circ}\text{C}$ 或更低温度下（-80 $^{\circ}\text{C}$ ）储存以备后用。

洗脱体积可以 $>10 \mu\text{L}$ ，但较小的洗脱体积会产生更高的 DNA 浓度。

注意事项

1. 本产品仅作科研用途。

2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

备忘录:

备忘录:



帮助客户创造价值，让世界更健康更快乐