

Hieff® Mag DNA Methylation Bisulfite Kit

磁珠法 DNA 甲基化亚硫酸氢盐转化试剂盒

12223ES

产品使用说明书

Ver. CN20230331

A large, decorative orange wave graphic at the bottom of the page, consisting of several overlapping, rounded shapes in various shades of orange.

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	5

产品简介

DNA 甲基化与基因表达和基因功能密切相关，高效、准确地检测 DNA 甲基化对于生物学、遗传学、病理学、药理学、医疗诊断等多方面研究已经变得越发重要。最常用的检测 DNA 甲基化的方法是亚硫酸氢盐转化法。亚硫酸氢盐能转化未发生甲基化的胞嘧啶，通过脱氨基反应产生尿嘧啶磺酸盐，发生甲基化的胞嘧啶则不会被亚硫酸氢盐转化。转化后的 DNA 经过高效吸附核酸的磁珠结合，再通过洗涤、脱硫和洗脱等步骤富集得到磁珠上的 DNA。

本试剂盒将 DNA 变性与亚硫酸氢盐转化合并为一步，转化反应时间需 2.5 h；DNA 投入量范围 100 pg-2 μg；未甲基化的胞嘧啶转化效率≥99.5%。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	12223ES10 / 12223ES50 / 12223ES70
规格	10 T / 50 T / 200 T

组分信息

类别	组分编号	组分名称	12223ES10	12223ES50	12223ES70
Part I	12223-A	转化液	1.2 mL×1	1.2 mL×5	1.2 mL×20
	12223-B	结合液	6.5 mL	32 mL	122 mL
Part II	12223-C	脱硫液	2.2 mL	12 mL	42 mL
	12223-D	洗涤液	2.5 mL	12.5 mL	50 mL
	12223-E	洗脱液	1 mL	5 mL	20 mL
	12223-F	磁珠悬浮液	0.12 mL	0.6 mL	1.3 mL×2

注：10T：使用前洗涤液(12223-D)每瓶需加入 10 mL 无水乙醇

50T：使用前洗涤液(12223-D)每瓶需加入 50 mL 无水乙醇

200T：使用前洗涤液(12223-D)每瓶需加入 200 mL 无水乙醇

储存条件

Part I 组分 2~8℃保存；Part II 组分常温保存。有效期 12 个月。

使用说明

手动操作说明

1. 转化

1) 取出 110 μL 转化液于 200 μL PCR 管(八连管)中，加入 40 μL DNA 样本(若不足 40 μL 可用水补足)，盖上管盖后，震荡混匀，瞬时离心，管盖上不要残留液体。

2) 将 PCR 管(八连管)放入 PCR 仪，执行如下程序：

温度	时间
热盖 105 °C	0n
98 °C	10 min
64 °C	2.5 h
4 °C	不超过 20h

2. 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 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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】：ddH₂O 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 $^{\circ}\text{C}$ 备用。

自动化操作说明

配套自动化仪器使用，以奥盛 Auto-Pure 32A 核酸提取仪器为例

1. 转化

- 1) 取出 110 μL 转化液于 200 μL PCR 管(八连管)中，加入 40 μL DNA 样本（若不足 40 μL 可用水补足），盖上管盖后，震荡混匀，瞬时离心，管盖上不要残留液体。
- 2) 将 PCR 管（八连管）放入 PCR 仪，执行如下程序：

温度	时间
热盖 105 $^{\circ}\text{C}$	0n
98 $^{\circ}\text{C}$	10 min
64 $^{\circ}\text{C}$	2.5 h
4 $^{\circ}\text{C}$	不超过 20h

2. 纯化

- 1) 按下表向 96 孔深孔板中加入相应试剂：

列的名称	位置	试剂	体积
样本处理列	1/7 列	转化后样本	150 μL
		结合液	600 μL
洗涤列	2/8 列	洗涤液	400 μL
脱硫列	3/9 列	脱硫液	200 μL
洗涤+磁珠列	4/10 列	洗涤液	400 μL
		磁珠悬浮液 1	10 μL
洗涤列	5/11 列	洗涤液	400 μL
洗脱列	6/12 列	洗脱液 2	35 μL

【注】：1. 磁珠悬浮液使用前需在涡旋混匀仪上充分重悬或充分颠倒混匀，在一次性加样 4-5 次后，建议再次混匀后加样。

2. 洗脱液体积建议大于等于 35 μL 。

- 2) 按照提取仪的位置，正确安放 96 孔板及磁棒套。
- 3) 按以下表程序进行自动化提取实验。

32 通道核酸提取仪器的提取程序

步骤	孔位	混合时间 (min)	吸磁时间 (sec)	等待时间 (min)	容积 (μL)	混合速度 (1-10)	温度 (°C)	混合位置 (0-100%)	混合幅度 (1-100%)	吸磁位置 (0-100%)	吸磁速度 (1-10)
取磁珠	4	0.2	30	0	400	5	Off	0	80	0	1
结合	1	10	60	0	800	5	Off	0	80	0	1
清洗 1	2	2	30	0	400	7	Off	0	80	0	1
脱硫 1	3	2	0	15	200	7	Off	0	80	0	1
脱硫 2	3	2	30	0	200	7	Off	0	80	0	1
清洗 2	4	2	30	0	400	7	Off	0	80	0	1
清洗 3	5	1.5	30	3	400	7	Off	0	80	0	1
洗脱	6	6	60	0	35	8	55	0	80	0	1
弃磁珠	4	0.2	0	0	400	7	Off	0	80	0	1

【注】：“选项”中选择“升温动作同步”，吸磁方式选择“悬停吸磁”。

3) 自动化程序结束后，将第 6、12 列洗脱液转移至干净的无核酸酶离心管中，溶液可置于-20 °C短期保存，-80 °C长期保存。

注意事项

1. 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。
2. 洗涤液首次使用时，需按标签注明的体积添加无水乙醇。
3. 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。
4. 磁珠使用前需要用涡旋混匀器振荡混匀。
5. 需自备无水乙醇
6. 本产品仅作科研用途。
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。



帮助客户创造价值，让世界更健康更快乐