

Hieff® Superfast DNA Methylation Bisulfite Kit

超快速 DNA 亚硫酸氢盐转化试剂盒（柱式）

产品简介

Hieff® Superfast DNA Methylation Bisulfite Kit 超快速 DNA 亚硫酸氢盐转化试剂盒（柱式）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_3^- 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。转化反应时间仅需 5 min；DNA 投入量范围 100 pg-2 μg ；未甲基化的胞嘧啶转化效率 $\geq 99\%$ 。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	12225ES10/12225ES50
规格	10T/50T

组分信息

组分编号	组分名称	12225ES10	12225ES50
12225-A	转化液	2 mL/瓶×1	3.3 mL/瓶×3
12225-B	洗涤液	1.1 mL/瓶×1	5.5 mL/瓶×1
12225-C	脱硫液	2.2 mL/瓶×1	11 mL/瓶×1
12225-D	洗脱液	500 μL /管×1	1.5 mL 管×1
12225-E	纯化柱	10 个	50 个
12225-F	收集管	10 个	50 个

注：10T/盒：向洗涤液中加入 4.4 mL 的无水乙醇；

50T/盒：向洗涤液中加入 22 mL 的无水乙醇；

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

12225-A 转化液室温避光保存，其他组分室温保存，有效期 12 个月。

注意事项

- 为保证下游实验的顺利进行，进行转化步骤时，应对投入的 DNA 总量进行精确定量，推荐使用 Qubit3.0/4.0 对投入 DNA 进行定量，且 A260 / A280 比值在 1.7 - 1.9 之间；
- DNA 投入量范围 100 pg-2 μg ，最佳投入量为 100 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。
- 转化液/脱硫液/洗涤液中含有挥发性组分，使用完毕后，应及时拧紧瓶盖，室温储存。
- 转化后样本，应及时进行下游实验，若短暂储存，可置于 -20°C，长期储存可置于 -80°C。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
- 本产品仅作科研用途！

使用说明

试剂及耗材准备：1.5 mL 的无菌离心管，无菌枪头，无核酶水，无水乙醇，PCR 管；

● 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
转化液	180 μL
ddH ₂ O	Up to 150 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。

- ❖ 注意：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 管中的反应液合并至同一个纯化柱中进行纯化。
- 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 min 以上。

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。

● 转化产物纯化

- 1) 准备好相应样本个数的纯化柱套件，将 200 μL 的转化后的反应液转移至纯化柱中，13000 g 离心 30-60 s，丢弃滤液，将纯化柱重新放于收集管中；
- 2) 向纯化柱中加入 100 μL 的**洗涤液**（确认已经添加无水乙醇），13000 g 离心 30-60s，丢弃滤液，将纯化柱重新放于收集管中；
- 3) 向纯化柱中加入 200 μL 的**脱硫液**，于室温中静置反应 20 min，反应结束后 13000 g 离心 30-60 s，丢弃滤液，将纯化柱重新放于收集管中；
- 4) 向纯化柱中加入 200 μL 的**洗涤液**，13000 g 离心 30-60s，丢弃滤液，将纯化柱重新放于收集管中；
- 5) 重复步骤 4) 一次；
- 6) 将纯化柱转移至准备好的 1.5 mL 的离心管中，开盖晾干后，加入 10-30 μL 的**洗脱液**至滤膜中央，室温静置 1min 后，13000 g 离心 1 min，收集洗脱液；
- 7) 将洗脱后的样本置于-20 °C 暂存，若长期保存，请将样本置于-80 °C 保存，同时应避免不必要的反复冻融。

注：纯化后转化产物可直接用于后续 PCR 反应或测序流程。