

## 快速 DNA 甲基化亚硫酸氢盐转化试剂盒

货号: KM701      50 次

### 试剂盒储存:

存储条件: 15-30°C保存, 有效期 6 个月。

运输条件: 10-40°C运输, 运输时间不超过 7 天。

### 试剂盒用途:

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后续基因检测。

### 试剂盒组成成份:

试剂盒组成	50 次	数量
结合液 J02	30mL	1 瓶
转化剂 M02	1.6mL	5 管
转化增强剂	1mL	1 管
脱硫剂	10mL	1 瓶
洗涤液	6.5mL	1 瓶
洗脱液	3.5mL	1 瓶
收集管	50 个/袋	1 袋
纯化柱	50 个/袋	1 袋

注: 1.需自备试剂: 无水乙醇。

2.转化剂在室温下密封保存, 尽量减少光照。

3.第一次使用洗涤液前, 请参照标签指示在溶液中加入指定量的试剂, 并进行标注。

## 样本要求：

血浆、组织、粪便、细胞、血液等样本提取的基因组DNA，其DNA投入范围为100pg~2μg，最佳量为200ng~500ng。

## 操作方法：

### 1.实验前试剂准备

在试剂盒中，添加21mL的无水乙醇到6.5mL的洗涤液中（加完无水乙醇后，请在洗涤液瓶签上的方框打上标记）。

### 2.提取操作：

2.1 取160μL的转化剂M0<sub>2</sub>和20μL的转化增强剂放入1.5mL的离心管中，同时加入20μL的待转化的样品DNA，振荡混匀后，瞬时离心。后将其平均分装在两个200μL的PCR管中；

注：如果样本DNA的体积少于20μL，则需要用纯化水补足。

2.2 将上述的PCR管置于PCR仪器上运行，运行程序如下：

- ① 98 °C 5min;
- ② 4 °C 20H; (可选)

2.3 程序运行结束后，将PCR管中的液体转移到装有600μL结合液J02的纯化柱（套在收集管）中，上下颠倒混匀，放到高速离心机中12000rpm/min，离心1min。

2.4 倒掉收集管中的废液，将纯化柱放回收集管中。

2.5 吸取100μL的洗涤液加入到纯化柱中，后放置在高速离心机中12000rpm/min，离心1min。

2.6 吸取200μL的脱硫剂加入到纯化柱中，室温放置15min。脱硫结束后，放置在高速离心机中12000rpm/min，离心1min。

2.7 吸取200μL的洗涤液加入到纯化柱中，后放置在高速离心机中12000rpm/min，离心1min。

2.8 重复操作步骤“2.7”。

2.9 倒掉收集管中的废液, 将纯化柱放置在干净的 1.5mL 离心管中。然后吸取 20 $\mu$ L 的洗脱液加入到纯化柱中, 放置在高速离心机中 12000rpm/min , 离心 1min 。所得的产物即为修饰后的 bisDNA , 可用于后续的实验。

**注: 1.DNA 洗脱完后应立即使用, 或者将其放置在-20 °C 的环境下保存起来 (不建议反复冻融)。**

**2.洗脱体积可以大于 20 $\mu$ L , 具体取决于实验需求, 但较小的洗脱体积会产生更高的 DNA 浓度。**

### **【注意事项】**

- 1.实验开始前, 应仔细阅读说明书, 并严格按照说明书操作进行。
- 2.实验开始前, 需熟悉和掌握使用 PCR 仪器的操作方法和注意事项。
- 3.操作人员需要经过专业培训, 具有一定的经验和操作技能。
- 4.实验操作时, 请佩戴一次性 PE 手套或橡胶手套。