

货号：AS33

DNA 亚硫酸氢盐转化液

2024V01



产品名称

DNA 亚硫酸氢盐转化液

产品规格

10T/盒；48T/盒；96T/盒

预期用途

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临床基因检测。

检验原理

本产品基本原理为 DNA 经亚硫酸盐处理后，可使未甲基化的胞嘧啶转变为尿嘧啶，而甲基化的胞嘧啶不变。

适配设备说明

磁力架、PCR 仪、涡旋振荡器、旋转混匀仪、离心机、移液器。

主要组成成分

组分	10T/盒	48T/盒	96T/盒
试剂 TB	1 mL×2 支	1.2 mL×8 支	1.2 mL×16 支
结合液	6 mL×1 瓶	28.8 mL×1 瓶	57.6 mL×1 瓶
洗涤液	4 mL×1 瓶	20 mL×1 瓶	40 mL×1 瓶
缓冲液 DB	1 mL×2 支	9.6 mL×1 瓶	19.2 mL×1 瓶
洗脱液	300 μL×1 支	720 μL×2 支	4 mL×1 瓶
磁珠悬液	200 μL×1 支	960 μL×1 支	960 μL×2 支

储存条件及有效期

- 储存条件：5-30℃；有效期：12 个月，请于有效期内使用。
- 试剂 TB 对光敏感且易氧化，开封后尽快使用。

样本要求

亚硫酸氢盐修饰后的 DNA 建议立即检测，否则请于-20℃以下保存，保存时间不超过 1 个月。

操作方法

使用前准备：

新开封的试剂，按照试剂瓶标签的说明先在洗涤液中加入 4 倍体积的无水乙醇（eg: 4mL 洗涤液中加入 16mL 无水乙醇），每次使用前检查洗涤液是否加入了无水乙醇。

转化：

- 取 20 μL DNA 样本、200 μL 试剂 TB 加至 1.5 mL 离心管中；

注：样本投入量在 100 pg-2 μg 之间（可根据实验目的选择不同的样本投入量，一般推荐使用 200 ng-500 ng），不足 20 μL 加水补足至 20 μL。

2. 混匀后放入 PCR 仪，设定转化程序为：

98 °C 10min

54 °C 1h

3. 转化结束后，将 220μL 转化后产物移至新的 1.5 mL 离心管中，再加入 600μL 结合液和 20 μL 磁珠悬液，振荡混匀后置于旋转混匀仪上，室温下（10-30°C）混匀 10 min；

注：磁珠在使用前须充分震荡混匀。

4. 瞬时离心后将离心管置于磁力架上静置，用移液器吸弃管内液体；

5. 向离心管中加入 500 μL 洗涤液，振荡混匀，瞬时离心后将离心管置于磁力架上静置，用移液器吸弃管内液体；

6. 向离心管中加入 200 μL 的缓冲液 DB，振荡混匀后，置于旋转混匀仪上，室温（10-30 °C）孵育 15 min，瞬时离心后将离心管置于磁力架上静置，用移液器吸弃管内液体；

7. 向离心管中加入 500 μL 洗涤液，瞬时离心后将离心管置于磁力架上静置，用移液器吸弃管内液体；

8. 向离心管中加入 200 μL 洗涤液，瞬时离心后将离心管置于磁力架上静置，用移液器吸弃管内液体，并于室温下晾干 15 min；

9. 向离心管中加入 30 μL 洗脱液，振荡混匀，65 °C 温浴 10 min，期间再次混匀 2-3 次使核酸充分洗脱。

10. 瞬时离心后置于磁力架上静置，将洗脱后的产物转移到新的离心管中，备用（最好立即检测，如不立即进行下游检测，请将洗脱后的产物放入-20 °C 以下保存）。

注意事项

1. 经亚硫酸氢盐转化后的 DNA 一般以单链或非特异性配对形式存在，其 OD230 会出现异常现象，可能导致 OD260/OD230 比值不稳定，实验表明这种情况不影响后续的 PCR 反应。

2. 试剂 TB 中含有低毒化合物亚硫酸氢铵。操作时勿接触皮肤和眼睛，如果接触到，应迅速擦干并用大量清水冲洗。

3. 缓冲液 DB 中含有氢氧化钠，氢氧化钠属中等毒性。

4. 洗涤液中有易燃成分，请勿靠近火源或其他可能造成危险的因素。

5. 转化过程中，转化时间过久会引起甲基化的 C 部分变成 U，导致假阴性，请严格按照操作说明书进行操作。

6. 试剂盒各组分使用前请充分混匀再使用。

7. 所有使用的器皿、移液枪等需为专用。离心管、枪头等一次性耗材需进行高压灭菌。

8. 不同批号的本产品若无特殊说明，请勿混合使用。

9. 产品过有效期或包装破损不得使用。

10. 使用后的废液需放入废液瓶保存，并交给第三方进行专业处理。