

# 操作手册

## 甲基化检测样本前处理试剂盒说明书

Catalog No. JSR530-10 (10 次反应)

JSR530-50 (50 次反应)

JSR530-200 (200 次反应)

### 【产品名称】

甲基化检测样本前处理试剂盒

### 【包装规格】

10 次/盒；50 次/盒；200 次/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。

Ver.1.0.0

## 【产品组成】

组分	10 次/盒		50 次/盒		200 次/盒	
	规格	数量	规格	数量	规格	数量
亚硫酸氢盐转化液	1.5ml/管	1	1.5ml/管	5	1.5ml/管	20
结合液	7ml/瓶	1	30ml/瓶	1	125ml/瓶	1
洗涤液	2ml/瓶	1	6ml/瓶	1	24ml/瓶	1
脱硫液	3ml/瓶	1	10ml/瓶	1	40ml/瓶	1
洗脱液	1ml/瓶	1	1ml/瓶	1	4ml/瓶	1
1 号 C 纯化柱	10 个/包	1	50 个/包	1	50 个/包	4
收集管	10 个/包	1	50 个/包	1	200 个/包	1

**注：** 1、需自备的试剂：乙醇。

2、亚硫酸氢盐转化液在室温下密封保存，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。

## 【储存条件及有效期】

储存条件：室温。

## 【样品要求】

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

## 【试剂准备】

添加 8ml 无水乙醇到 2ml 的洗涤液中。

添加 24ml 无水乙醇到 6ml 的洗涤液中。

添加 96ml 无水乙醇到 24ml 的洗涤液中。

加入后请及时在方框打钩标记，以免多次加入。

## 【操作步骤】

1. 取 130 $\mu$ l 亚硫酸氢盐转化液加入含有 20 $\mu$ l DNA 样品的 PCR 管中混匀。短暂离心确保管盖和管壁上没有残留液体。

**注意：** 如果 DNA 的体积少于 20 $\mu$ l，则需要用无菌水补足至 20 $\mu$ l。

2. 把上述 PCR 管置于 PCR 仪器上运行以下程序：

① 98°C 8min

② 54°C 60min

③ 4°C 20h (可选)

3. 将 1 号 C 纯化柱套在收集管中，添加 600 $\mu$ l 的结合液至 1 号 C 纯化柱中。

4. 将步骤 2 中的全部混合液直接添加到 1 号 C 纯化柱中与结合液混匀，盖盖后颠倒混匀纯化柱。

5. 在  $\geq 10,000 \times g$  离心 1 分钟，弃滤液。

6. 添加 100 $\mu$ l 制备好的洗涤液到 1 号 C 纯化柱中， $\geq 10,000 \times g$  离心 1 分钟。

7. 添加 200 $\mu$ l 脱硫液到 1 号 C 纯化柱中，室温 (20~30°C) 放置 15-20 分钟，在  $\geq 10,000 \times g$  离心 1 分钟。

8. 添加 200 $\mu$ l 制备好的洗涤液到 1 号 C 纯化柱中，在  $\geq 10,000 \times g$  离心 1 分钟。

9. 重复步骤 8。

10. 将 1 号 C 纯化柱转移至一个干净的 1.5ml 离心管中并加入 10 $\mu$ l 洗脱液直接加入到柱基质中。全速离心 1 分钟以洗脱 DNA。

**注：**DNA 可以立即进行分析，也可以在 -20°C 或更低温度下 (-80°C) 储存以备后用。我们建议每次 PCR 使用 1-4 $\mu$ l 洗脱的 DNA，如有必要，最多可以使用 10 $\mu$ l。洗脱体积可以  $>10\mu$ l，具体取决于您的实验要求，但较小的洗脱体积会产生更高的 DNA 浓度。

#### 【注意事项】

1. 在实验前，应仔细阅读说明书。实验操作应由具有专业经验和经过培训的人员进行。
2. DNA 纯度需满足 OD<sub>260/280</sub> 在 1.8~2.0 之间，否则会影响转化效率。
3. DNA 量大于 20 $\mu$ l 需要分管操作。
4. 推荐后续使用热启动 Taq DNA 聚合酶进行扩增。
5. 实验操作时请戴一次性 PE 或橡胶手套。