

甲基化检测样本前处理试剂盒说明书

【产品名称】

甲基化检测样本前处理试剂盒（磁珠法）

【包装规格】

4 x 96 次反应； 8 x 96 次反应

【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。

【组成成分】

组分	规格（4 x 96 次）	数量	规格（8 x 96 次）	数量
亚硫酸氢盐转化液	15ml/瓶	4	15ml/瓶	8
结合液	250mL/瓶	1	250mL/瓶	2
洗涤液	72ml/瓶	2	72ml/瓶	4
脱硫液	80ml/瓶	1	80ml/瓶	2
洗脱液	8mL/瓶	2	16mL/瓶	1
磁珠	8mL/瓶	1	16mL/瓶	1
96 孔 PCR 板	0.2ml	4	0.2ml	8
96 孔深孔板	1.2ml/孔	6	1.2ml/孔	10
洗脱板	90μl/孔	4	90μl/孔	8

注： 1、需自备的试剂：无水乙醇。

2、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：产品应贮存在 4~35℃ 环境中。

有效期：产品有效期为 12 个月，请在有效期内使用。

【样品要求】

血浆、组织、粪便、细胞、血液等样本提取的基因组 DNA，核酸内切酶消化的 DNA，线性化的质粒 DNA 等。DNA 投入范围为 100pg~2ug，最佳量为 200~500ng。

【试剂准备】

使用前将 288ml 95-100%乙醇添加到 72ml 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 μ l 的亚硫酸氢盐转化液加入含有 20 μ 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 μ l，用无酶水或超纯水补足至 20 μ l。

2. 把上述 PCR 管置于 PCR 仪器上运行以下反应程序：

- ① 98 $^{\circ}$ C 8min
- ② 54 $^{\circ}$ C 60min
- ③ 4 $^{\circ}$ C 20h（可选）

3. 打开干式恒温加热器，预热至 55 $^{\circ}$ C。
4. 吸取 600 μ l 的结合液并加入到孔板的每个孔中。
5. 将磁珠液置于涡旋振荡器上，涡旋混匀 1-2min，使磁珠均匀分散于溶液中。
6. 迅速吸取 10 μ l 磁珠并加入到孔板的每个孔中。

注意：磁珠的沉降速度非常快，确保在添加到孔板时磁珠保持均匀悬浮分散状态。

7. 将反应完的产物转移至含有结合液和磁珠的孔板中，上下吹打混匀 5-10 次，室温静置 5min。
8. 将孔板转移到磁力架上，直到磁珠与上清完全分离，然后弃上清液。
9. 将孔板从磁力架上取下，吸取 400 μ l 洗涤液并加入到孔板的每个孔中，上下吹打混匀 5-10 次，静置 1 分钟。将孔板转移到磁力架上，磁珠与上清完全分离后弃上清液。
10. 将孔板从磁力架上取下，吸取 200 μ l 脱硫液并加入到孔板的每个孔中，上下吹打混匀 5-10 次，室温静置 15-20min（静置期间每隔 5 分钟左右混匀 1 次）；然后将孔板转移到磁力架上，磁珠与上清完全分离后弃上清液。
11. 将孔板从磁力架上取下，吸取 400 μ l 洗涤液并加入到孔板的每个孔中，上下吹打混匀 5-10 次，静置 1 分钟。将孔板转移到磁力架上，磁珠与上清完全分离后弃上清液。

-
12. 重复操作步骤 11 一次。
 13. 将孔板转移到 55℃干式恒温加热器上，干燥磁珠 20-30 分钟并去除残留洗涤液。
 14. 将 $\geq 25\mu\text{l}$ 洗脱液直接添加到干燥的磁珠孔中，用移液器或涡旋器上下混匀以重悬磁珠。
 15. 将孔板置于 55℃干式恒温加热器上孵育 4 分钟，然后将孔板转移到磁力架上静置 1 分钟，磁珠完全吸附后，吸取上清液并转移到一个干净的洗脱板中。

注：DNA 可以立即进行分析，也可以在-20℃或更低温度下（-80℃）储存以备后用。

【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 OD260/280 在 1.8~2.0 之间，否则会影响转化效率。
3. DNA 量大于 20 μl 需要分管操作。
4. 实验操作时请戴一次性 PE 或橡胶手套。
5. 推荐后续采用热启动 Taq DNA 聚合酶进行扩增。

【基本信息】

【生产企业】简石生物技术（浙江）有限公司

住 所：浙江省余姚市中意宁波生态园兴舜路 36 号 11 幢

生产地址：浙江省余姚市中意宁波生态园兴舜路 36 号 11 幢

网 址：www.jianshibio.com 邮政编码：315400

【医疗器械生产备案凭证编号】浙甬食药监械生产备 20220001 号

【医疗器械备案凭证编号/产品技术要求编号】浙甬械备 20230001

【说明书批准及修改日期】2022 年 12 月 12 日