

Recombinant Ten-Eleven Translocase 2 (TET2)

产品编号	产品名称	包装
D6753S	Recombinant Ten-Eleven Translocase 2 (TET2)	10μg (40次)
D6753M	Recombinant Ten-Eleven Translocase 2 (TET2)	50μg (200次)

产品简介:

- 碧云天研发生产的Recombinant Ten-Eleven Translocase 2 (TET2), 即10-11易位蛋白酶2, 也称Tet Methylcytosine Dioxygenase 2, 即10-11易位甲基胞嘧啶双加氧酶2或TET甲基胞嘧啶双加氧酶2, 是碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化获得的一种Fe²⁺和α-酮戊二酸(α-Ketoglutarate, α-KG)依赖的甲基胞嘧啶加氧酶。TET2可通过一系列氧化反应催化5-甲基胞嘧啶(5-Methylcytosine, 5-mC)转化为5-羟甲基胞嘧啶(5-Hydroxymethylcytosine, 5-hmC), 再进一步转化为5-甲酰胞嘧啶(5-Formylcytosine, 5-fC)和5-羧基胞嘧啶(5-Carboxylcytosine, 5-caC) [1]。TET2可以用于NGS (Next-generation sequencing)甲基化测序, 如酶法甲基化测序(Enzymatic methyl sequencing, EM-seq)、TET辅助重亚硫酸盐测序(Tet-assisted bisulfite sequencing, TAB-seq)、TET辅助吡啶硼烷测序(TET-assisted pyridine borane sequencing, TAPS)等[2]。
- 全基因组重亚硫酸盐测序(Whole genome bisulfite sequencing, WGBS)一直是研究DNA甲基化图谱的金标准, 但重亚硫酸盐的化学反应会对DNA造成损伤, 导致DNA断裂、丢失以及在甲基化区域表现出明显的GC偏嗜性, 而基于酶法的甲基化测序就克服了这些缺点。EM-seq通过酶法完成全基因组甲基化测序建库包括两个步骤: 第一步使用Recombinant TET2和T4-BGT (T4-phage beta-glucosyltransferase)将5-甲基胞嘧啶(5-mC)和5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)分别转化为5-羧基胞嘧啶(5-caC)和β-葡萄糖基-5羟甲基胞嘧啶(β-glucosyl-5 hydroxymethyl-cytosine, 5-gmC), 5-caC和5-gmC的胞嘧啶经过修饰不能被APOBEC3A进行脱氨处理; 第二步利用脱氨酶APOBEC3A对未修饰的胞嘧啶进行脱氨, 将胞嘧啶(C)转化为尿嘧啶(U), 此步骤不会对5-caC和5-gmC造成影响, 从而将两者区分开来。因此使用TET2、T4-BGT和APOBEC3A这三种酶实现对5-mC和5-hmC的特异性检测[2]。
- 碧云天生产的Recombinant TET2的酶活性检测效果请参考图1。

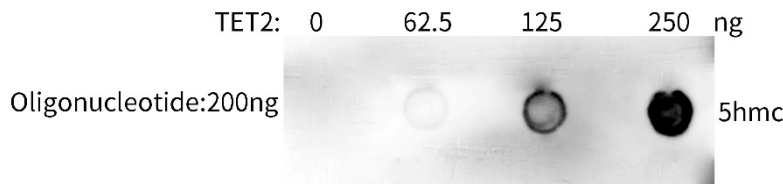


图1. 碧云天Recombinant Ten-Eleven Translocase 2 (TET2) (D6753)将5-甲基胞嘧啶(5-mC)转化为5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)的效果图。在20μl体系中加入图中指定量的本产品以及1μg含5-甲基胞嘧啶(5-mC)的30bp双链DNA和相应TET2反应缓冲液, 37°C孵育1小时; 孵育结束后, 取4μl反应产物滴至尼龙膜(FFN10)上, 待样品风干后, 进行紫外交联, 然后用Wash Buffer (0.1% Tween-20 in 1X PBS)洗涤3分钟, 洗去未结合至膜上的DNA, 再用Blocking Buffer (5% Non-fat milk in Wash Buffer)室温封闭1小时, 之后将膜转移至5-Hydroxymethylcytosine (5-hmC) Antibody中, 4°C孵育过夜(或室温孵育2小时)。孵育结束后用Wash Buffer室温洗涤4次, 每次5分钟; 随后将洗涤过的尼龙膜浸泡在适当稀释的辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG (H+L) (A0208)溶液中, 室温孵育1小时。然后用Wash Buffer室温洗涤4次, 每次5分钟; 最后用BeyoECL Star (特超敏ECL化学发光试剂盒) (P0018A)进行化学发光, 并使用BeyoImager™ 600化学发光成像系统记录化学发光效果。如图所示, 本产品可将5-甲基胞嘧啶(5-mC)转化为5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC), 且效果显著。含5-甲基胞嘧啶(5-mC)的30bp双链DNA的制备: 将两条分别含5-甲基胞嘧啶(5-mC)的30nt单链DNA按照Annealing Buffer for DNA Oligos (5X) (D0251)说明书中的使用方法通过梯度降温退火形成双链DNA。实际操作时不同实验条件获得的实验结果会略有差异, 图中所示结果仅供参考。

- 用途:** 可用于EM-seq、TAB-seq、TAPS等对5-甲基胞嘧啶(5-mC)和5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)进行特异性检测; 也可用于酶动力学、抑制剂筛选和选择性分析。
- 来源:** 由大肠杆菌表达人源TET2基因, 经纯化而获得。
- 纯度:** 不含DNA内切酶和外切酶, 不含RNA酶, 不含磷酸酯酶, 纯度大于90%。
- 酶储存溶液:** 50mM Hepes (pH6.8 @ 25°C), 300mM NaCl, 1mM DTT, 50% Glycerol。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D6753S-1	TET2 (0.25μg/μl)	40μl
D6753S-2	10X TET2 Buffer I	100μl
D6753S-3	10X TET2 Buffer II	100μl

D6753S-4	10X TET2 Buffer III	100µl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6753M-1	TET2 (0.25µg/µl)	200µl
D6753M-2	10X TET2 Buffer I	500µl
D6753M-3	10X TET2 Buffer II	500µl
D6753M-4	10X TET2 Buffer III	500µl
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，至少两年有效。

注意事项：

- 使用本产品时宜放在冰盒内或冰浴上，使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 使用Recombinant TET2将5-甲基胞嘧啶(5-mC)转化为5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)。

- 含5-甲基胞嘧啶(5-mC)的30bp双链DNA的制备.使用碧云天Annealing Buffer for DNA Oligos (5X) (D0251)使两条互补的单链DNA (中间含有一个或多个5-甲基胞嘧啶(5-mC))退火形成含5-甲基胞嘧啶(5-mC)残基的双链DNA。
- Recombinant TET2催化5-甲基胞嘧啶(5-mC)转化为5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)的反应。
 - 参考下表在冰浴中配制反应体系。

Reagent	Volume	Final concentration
BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)	up to 20µl	-
10X TET2 Buffer I	2µl	1X
10X TET2 Buffer II	2µl	1X
10X TET2 Buffer III	2µl	1X
dsDNA with 5mC (20µM, 0.37µg/µl)	2.7µl	50ng/µl
Recombinant TET2 (0.25µg/µl)	1µl	12.5ng/µl
Total Volume	20µl	-

注：按上表设置好反应体系后，轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用Vortex在最低速度轻轻混匀)，随后低速离心沉淀液体。如果同时进行多个反应，可以把上表中除dsDNA之外的所有溶液和酶提前混合，分装到各反应管，最后再加入dsDNA。

- 反应条件：37°C孵育60分钟。
- 终止反应：反应结束后加入蛋白酶K或酚氯仿抽提可终止反应。

2. EM-seq：使用Recombinant APOBEC3A (A3A) (D6751)、Recombinant Ten-Eleven Translocase 2 (TET2)和T4 Phage β-glucosyltransferase (T4-BGT) (D6755)进行酶法甲基化测序请参考相关文献进行[2]。

3. 其它应用请参考相关文献进行。

参考文献：

- Ravichandran M, Rafalski D, Davies CI, Ortega-Recalde O, Nan X, et al. Sci Adv. 2022. 8(36):eabm2427.
- Vaisvila R, Ponnaluri VKC, Sun Z, Langhorst BW, Saleh L, et al. Genome Res. 2021. 31(7):1280-1289.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
A0208	辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L)	1ml
D0068	DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒	50次/200次
D0069	BeyoMag™磁珠法DNA亚硫酸氢盐转化试剂盒	96次/4×96次
D0251	Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)	1ml
D6751	Recombinant APOBEC3A (A3A)	25µg/100µg/500µg
D6753	Recombinant Ten-Eleven Translocase 2 (TET2)	10µg/50µg
D6755	T4 Phage β-glucosyltransferase (T4-BGT)	500U/2500U
P0018A	BeyoECL Star (特超敏ECL化学发光试剂盒)	100ml/500ml
ST876	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100ml/500ml

Version 2025.02.08