

T4 Phage β -glucosyltransferase (T4-BGT)

产品编号	产品名称	包装
D6755S	T4 Phage β -glucosyltransferase (T4-BGT)	500U
D6755M	T4 Phage β -glucosyltransferase (T4-BGT)	2500U

产品简介:

- 碧云天研发生产的T4 Phage β -glucosyltransferase (T4-BGT), 即T4噬菌体 β -葡糖基转移酶, 也称T4 β -葡糖基转移酶(T4 β -glucosyltransferase), 是碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化获得的一种酶。T4-BGT能够将葡糖基团从尿苷二磷酸葡萄糖(Uridine diphosphate glucose, UDP-Glucose)转移至双链DNA中的5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5-hmC)残基, 生成 β -葡糖基-5羟甲基胞嘧啶(β -glucosyl-5 hydroxymethylcytosine, 5-gmC), 含5-gmC的双链DNA因免受MunI/MfeI限制性内切酶的切割, 从而起到保护5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)的作用[1]。T4-BGT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)、APOBEC偶联甲基化测序(APOBEC-coupled epigenetic sequencing, ACE-seq)、TET辅助重亚硫酸盐测序(Tet-assisted bisulfite sequencing, TAB-seq)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TET2 (Tet methylcytosine dioxygenase 2)和T4-BGT将5-甲基胞嘧啶(5-Methylcytosine, 5-mC)和5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)分别转化为5-羧基胞嘧啶(5-Carboxylcytosine, 5-caC)和 β -葡糖基-5羟甲基胞嘧啶(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5caC和5gmC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T4-BGT的酶活性检测效果请参考图1。

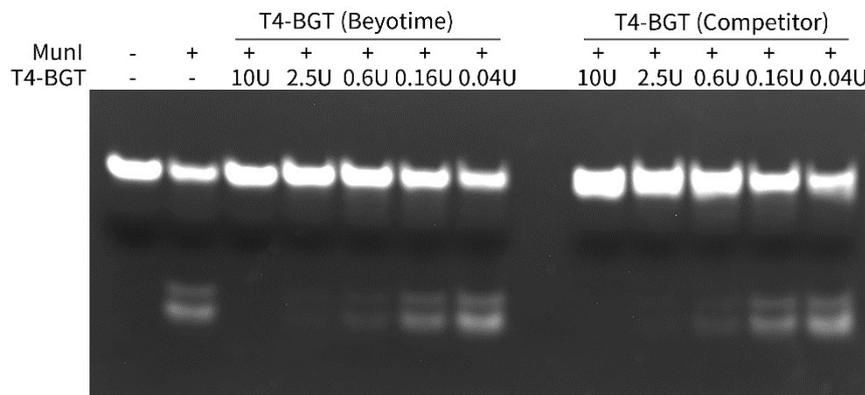


图1. 碧云天T4 Phage β -glucosyltransferase (T4-BGT) (D6755)催化5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)生成 β -葡糖基-5羟甲基胞嘧啶(5-gmC)后免于被酶切的效果图。在20 μ l反应体系中, 加入图中指定量的本产品或N公司(Competitor)的T4-BGT与20pmol含一个5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)残基的双链DNA, 37°C孵育60分钟, 以产生 β -葡糖基-5羟甲基胞嘧啶(5-gmC), 65°C孵育10分钟以终止反应。随后, 取出其中的10 μ l加入40U的MunI (D6476)及相应的缓冲液, 37°C孵育60分钟进行酶切反应, 65°C孵育20分钟以终止反应, 反应完毕后加入DNA上样缓冲液(6X) (D0071), 随后用BeyoGel™ TBE PAGE预制胶(15%) (D0182/D0183)进行电泳分析, 最终进行核酸染色和荧光成像分析。如图所示, 本产品与N公司的产品相比, 具有类似的催化效果。第一步反应体系(20 μ l): 20mM Tris-Acetate (pH7.9 @ 25°C), 50mM Potassium Acetate, 10mM Magnesium Acetate, 1mM DTT, 0.04mM Uridine Diphosphate Glucose, 20pmol含一个5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)残基的双链DNA以及不同浓度的T4-BGT。含5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)残基双链DNA的制备方法: 将含一个5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)残基的24nt单链DNA(其中包含MunI酶切位点CAATTG序列, 并且CAATTG序列中的C为5-hmC)和正常的与其互补的28nt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含一个5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)残基的双链DNA。第二步反应体系(20 μ l): 10mM Tris-HCl (pH7.5 @ 37°C), 10mM MgCl₂, 50mM NaCl, 0.1mg/ml BSA, 10pmol含 β -葡糖基-5羟甲基胞嘧啶(5-gmC)的双链DNA以及40U的MunI (第一步反应残留的组分除双链DNA外未列出)。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、ACE-seq、TAB-seq等对5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)进行特异性检测; 可用于富集含有5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)

的DNA；也可用放射性尿苷二磷酸葡萄糖(UDP-Glucose)供体对5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)残基进行标记。

- **来源：**由大肠杆菌表达噬菌体T4-BGT基因，经纯化而获得。
- **活性定义：**One unit is defined as the amount of T4-BGT required to protect 0.5µg T4gt-DNA against cleavage by MunI restriction endonuclease.
- **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95%。
- **酶储存溶液：**20mM KPO₄, 200mM NaCl, 0.25mM DTT, 0.1mM EDTA, 50% Glycerol (pH7.0 @ 25°C).
- **10X T4-BGT Buffer:** 200mM Tris-acetate (pH7.9 @ 25°C), 500mM Potassium acetate, 100mM Magnesium acetate, 10mM DTT.
- **失活或抑制：**65°C加热10分钟可使T4-BGT失活。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D6755S-1	T4-BGT (10U/µl)	50µl
D6755S-2	10X T4-BGT Buffer	200µl
D6755S-3	UDP-glucose (2mM)	20µl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6755M-1	T4-BGT (10U/µl)	250µl
D6755M-2	10X T4-BGT Buffer	1ml
D6755M-3	UDP-glucose (2mM)	100µl
—	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T4-BGT将尿苷二磷酸葡萄糖(UDP-Glucose)的葡糖基团转移至双链DNA中的5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)残基，产生β-葡糖基-5羟甲基胞嘧啶(5-gmC)。
 - a. 含5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)残基双链DNA的制备。使用碧云天Annealing Buffer for DNA Oligos (5X) (D0251)使单链DNA (中间含有一个或多个5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC))和其互补的单链DNA (中间不含有5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC))退火形成含5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)残基的双链DNA。推荐的退火后双链长度为20-30bp。如果序列中包含MunI酶切位点CAATTG序列，并且CAATTG序列中的C为5-hmC，那么后续可以使用MunI进行酶切分析和鉴定。
 - b. T4-BGT对双链DNA中的5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)的葡糖基化反应。
 - a) 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)	14.6µl	-
10X T4-BGT Buffer	2µl	1X
UDP-glucose (2mM)	0.4µl	0.04mM
dsDNA with 5-hmC (10µM)	2µl	1µM
T4-BGT (10U/µl)	1µl	0.5U/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。

- b) 反应条件：37°C孵育60分钟。
 - c) 终止反应：65°C加热10分钟可使T4-BGT失活。
- c. 如果进一步检测T4-BGT对双链DNA中的5-hmC的葡糖基化效果，对于初始双链DNA含MunI酶切位点CAATTG序列，并且CAATTG序列中的C为5-hmC，那么就可使用MunI (D6476)进行酶切分析和鉴定。
2. EM-seq：使用Recombinant APOBEC3A (A3A) (D6751)、Recombinant Ten-Eleven Translocase 2 (TET2) (D6753)和T4 Phage β-glucosyltransferase (T4-BGT)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：

1. Moréra S, Imberty A, Aschke-Sonnenborn U, Rüger W, Freemont PS. J Mol Biol. 1999. 292(3):717-30.
2. 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
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
D0071	DNA上样缓冲液(6X)	2ml
D0182S	BeyoGel™ TBE PAGE预制胶(15%, 10孔)	10块
D0183S	BeyoGel™ TBE PAGE预制胶(15%, 15孔)	10块
D0251	Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)	1ml
D6476	MunI	400U/2kU/10kU/50kU
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
ST876	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100ml/500ml

Version 2025.02.08