

产品组分

组分名称	组分目录号	规格-1	规格-2
		10 RXN(50 µL/RXN)	24 RXN(50 µL/RXN)
TET2	RM20540	40 µL	96 µL
TET2 Reaction Buffer	RM20815	300 µL	300 µL
TET2 Reaction Enhancer	RM20816	-	-
100 mM DTT	RM20117	10 µL	24 µL
Fe(II) Solution	RM20817	10 µL	10 µL

产品说明

TET2 是 ABclonal 自主研发生产的增强型双加氧酶, 具有金属离子依赖性, 其有很高的氧化活性。搭配 TET2 Reaction Buffer 和 Enhancer, 可以快速高效地氧化 DNA 中的 5-甲基胞嘧啶 (5-mC) 和 5-羟甲基胞嘧啶 (5-hmC), 即催化完成 5-甲基胞嘧啶 (5-mC) → 5-羟甲基胞嘧啶 (5-hmC) → 5-甲酰胞嘧啶 (5-fC) → 5-羧基胞嘧啶 (5-caC)。

TET2 是一种甲基化研究的工具酶, 应用于 NGS 甲基化检测、甲基化 PCR 和甲基化 qPCR 等领域。与传统的重亚硫酸盐法处理相比, TET2 氧化过程对 DNA 的损伤较少, 能够最大程度上保持 DNA 的完整性, 获得更好的测序质量, 在 FFPE DNA、cfDNA 以及其他低质量或微量 DNA 样本的甲基化处理中, 具有很大优势。

保存条件

运输温度: 长途运输采用干冰运输, 或者干冰结合冰袋方式。请勿采用冰袋运输条件进行长途运输。

保存温度: -20°C 长期保存。

注意事项

1. 关于 DNA 样品:

- 1) DNA 样本中不能含有 EDTA, 否则会影响 TET2 反应;
- 2) 若 DNA 溶解在 TE 等含有 EDTA 的溶液中, 可先用 DNA 磁珠纯化后再洗脱转移到无核酸酶水。
- 3) 如需使用片段化的 DNA 样本, 推荐采用机械打断进行 DNA 的片段化处理, 不建议采用酶切打断。
- 4) 如果需要对 DNA 样本进行片段化, 推荐将 DNA 片段化至 200-300 bp 平均大小。

2. 关于 TET2 Reaction Enhancer:

- 1) TET2 Reaction Enhancer 为粉末, 使用前请确保离心至管底, 然后加入 300 µL TET2 Reaction Buffer, 充分溶解并混匀离心后, 即为 TET2 Buffer, 可以直接使用。
- 2) 配制好的 TET2 Buffer 需要做好标记和日期, 试剂需要避光保存, 避免反复冻融, 可在 -20°C 保存 4 个月。

3. 关于铁离子:

- 1) Fe(II) Solution 用于激活启动 5mC/5hmC oxidation。
- 2) Fe(II) Solution 现用现稀释, 稀释后应马上使用, 不可储存, 用后废弃。

实验步骤

1. 样本准备

1.1. 在一洁净的 PCR 管中准备 10 ng-200 ng 不含 EDTA 的双链 DNA 样本于 30 µL Nuclease-free water 中。

2. TET2 酶处理

2.1. 取 300 µL TET2 Reaction Buffer 加入到一管 TET2 Reaction Enhancer 中, 充分混匀溶解后, 瞬时离心至管底, 放置于冰上备用, 做好标记和日期。

注: TET2 Reaction Enhancer 为粉末, 使用前请确保离心至管底。配制好的 TET2 Buffer 可在 -20°C 保存 4 个月。

2.2. 在冰上准备如下混合体系:

TET2

组分	体积
DNA 样本 (步骤 1.1.)	30 μ L
TET2 Buffer (步骤 2.1.)	10 μ L
DTT	1 μ L
TET2	4 μ L
Total	45 μ L

涡旋混匀，瞬时离心至管底，放置于冰上备用。

2.3. 取 1 μ L Fe(II) Solution 加入到 1249 μ L Nuclease-free water 中，涡旋混匀，瞬时离心至管底。

注：Fe(II) Solution 现配现用。

2.4. 在冰上准备如下反应体系：

组分	体积
混合体系 (步骤 2.2.)	45 μ L
稀释好的 Fe(II) Solution (步骤 2.3.)	5 μ L
Total	50 μ L

涡旋混匀，瞬时离心至管底。

2.5. 将 PCR 管置于 PCR 仪上，热盖温度设置 50°C，运行如下反应程序：

温度	时间
37°C	1 h
4°C	Hold

备注：1. 反应结束后，可用 1 μ L Proteinase K (20 mg/mL) (ABclonal, Cat.NO. RK20561) 终止反应，再用 1.8x 磁珠 (RK20257) 纯化终止反应产物。