

## 产品组分

组分名称	组分目录号	规格-1	规格-2
		10 RXN (100 $\mu$ L/RXN)	24 RXN (100 $\mu$ L/RXN)
APOBEC	RM20542	10 $\mu$ L	24 $\mu$ L
APOBEC Reaction Buffer	RM20819	100 $\mu$ L	240 $\mu$ L
Recombinant Albumin (20 mg/mL)	RM20543	10 $\mu$ L	24 $\mu$ L

## 产品说明

胞嘧啶脱氨酶 (APOBEC) 是 ABclonal 自主研发生产, 具有很高的脱氨活性, 在 DNA 主动去甲基化过程中发挥了重要作用, 可以使单链 DNA 中的胞嘧啶 (C)、5-甲基胞嘧啶 (5mC) 和 5-羟甲基胞嘧啶 (5hmC) 脱去氨基变为尿嘧啶 (U), 协助进行甲基化分析。

APOBEC 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, 温和的酶处理对 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:  $-20^{\circ}\text{C}$  长期保存。

## 实验步骤

### 1. 样本准备

1.1. 在一洁净的 PCR 管中准备 16  $\mu$ L 样本, 包含 10 ng~200 ng 的双链 DNA。

### 2. DNA 变性

2.1. 将 PCR 仪预热至  $85^{\circ}\text{C}$ , 热盖温度设置  $105^{\circ}\text{C}$

2.2. 向 16  $\mu$ L DNA 样品 (步骤 1.1.) 中加入 4  $\mu$ L 甲酰胺, 涡旋混匀, 瞬时离心至管底。

2.3. 将 PCR 管置于预热好的 PCR 仪上,  $85^{\circ}\text{C}$  孵育 10 min。

2.4. 孵育结束后立即转移到冰上, 并准备进行脱氨基反应。

### 3. 脱氨基反应

3.1. 在冰上准备如下混合体系:

组分	体积
变性后的 DNA (步骤 2.4.)	20 $\mu$ L
APOBEC Reaction Buffer	10 $\mu$ L
Recombinant Albumin (20 mg/mL)	1 $\mu$ L
APOBEC	1 $\mu$ L
Nuclease-free water	Up to 100 $\mu$ L
Total	100 $\mu$ L

涡旋混匀, 瞬时离心至管底。

3.2. 将 PCR 管置于 PCR 仪上, 热盖温度设置  $50^{\circ}\text{C}$ , 运行如下反应程序:

温度	时间
$37^{\circ}\text{C}$	3 h
$4^{\circ}\text{C}$	Hold

备注: 可用 1.8x 磁珠 (RK20257) 纯化反应产物。