

Recombinant APOBEC3A (A3A)

产品编号	产品名称	包装
D6751S	Recombinant APOBEC3A (A3A)	25 μ g
D6751M	Recombinant APOBEC3A (A3A)	100 μ g
D6751L	Recombinant APOBEC3A (A3A)	500 μ g

产品简介:

- 碧云天研发生产的Recombinant APOBEC3A (A3A), 即载脂蛋白B mRNA编辑酶催化亚基3A (Apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic subunit 3A, or Apolipoprotein B mRNA-editing catalytic polypeptide-like 3A), 也称为APOBEC3A, A3A, ARP3, PHRBN, DNA dC->dU-editing enzyme APOBEC-3A或DNA dC->dU-editing enzyme APOBEC3A, 是碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化获得的一种DNA胞嘧啶脱氨酶。
- APOBEC3A属于APOBEC3基因家族, 在机体抗病毒过程中有重要作用, 其中的作用机制之一是可以把外源的病毒的单链DNA中的胞嘧啶脱氨基变成尿嘧啶, 从而导致DNA的降解[1]。APOBEC3A可将单链DNA中的胞嘧啶脱氨基转变成尿嘧啶, 后续PCR扩增时就会相当于产生了C变成T的突变, 从而可以用于特异性检测DNA甲基化水平。APOBEC3A可以用于基因组DNA的甲基化测序, 如酶法甲基化测序(Enzymatic methyl sequencing, EM-seq)和APOBEC偶联甲基化测序(APOBEC-coupled epigenetic sequencing, ACE-seq)等[2]。
- 亚硫酸盐全基因组测序(Whole genome bisulfite sequencing, WGBS)一直是研究DNA甲基化图谱的金标准, 但亚硫酸盐的化学反应会对DNA造成损伤, 导致DNA断裂和丢失以及在甲基化区域表现出明显的GC偏好性, 而基于酶法的基因组DNA甲基化测序可以克服这些缺点。EM-seq通过酶法完成全基因组DNA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 (T4-phage beta-glucosyltransferase)将5-甲基胞嘧啶(5-Methylcytosine, 5mC)和5-羟甲基胞嘧啶(5-Hydroxymethylcytosine, 5hmC)分别转化为5-羧基胞嘧啶(5-Carboxyl cytosine, 5caC)和 β -葡糖基-5羟甲基胞嘧啶(β -glucosyl-5 hydroxymethyl-cytosine, 5gmC), 5caC和5gmC因为经过修饰不能被APOBEC3A进行脱氨处理。第二步利用APOBEC3A脱氨酶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这三种酶可实现对5mC和5hmC的特异性检测[2]。
- 碧云天生产的Recombinant APOBEC3A (A3A)的酶活性检测结果请参考图1。

APOBEC3A: 0 250 125 62.5 31.3 ng

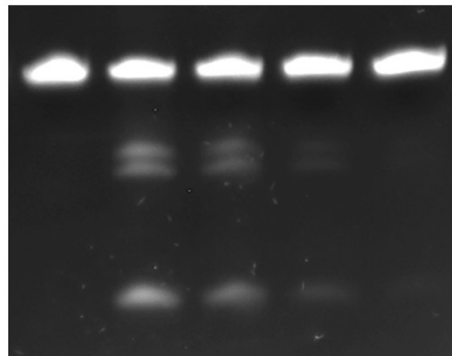


图1. 碧云天Recombinant APOBEC3A (A3A) (D6751)催化胞嘧啶脱氨基转化为尿嘧啶的效果图。在20 μ l体系中, 加入含胞嘧啶(C)残基的单链DNA和图中指定量的本产品, 以及相同量的Uracil-DNA Glycosylase (*E. coli*) (D7360)和Endonuclease VIII (D6781), 37 $^{\circ}$ C孵育过夜使胞嘧啶脱氨基转化为尿嘧啶, 然后利用Uracil-DNA Glycosylase (*E. coli*) (D7360)催化尿嘧啶碱基和脱氧核糖之间的N-糖苷键发生水解, 从而释放游离尿嘧啶产生一个脱嘧啶(Apyrimidinic, AP)位点, 接着利用Endonuclease VIII (D6781)的AP裂解酶(AP-lyase)活性进行AP位点切除反应, 反应完毕后立即放至冰上, 并加入DNA/RNA Loading Buffer (2X, for Denaturing PAGE) (R0212), 随后用BeyoGel™ TBE-Urea PAGE 预制胶(15%) (R0243/R0244)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, 本产品可将单链DNA中的胞嘧啶脱氨基转化为尿嘧啶, 且效果显著。反应体系(20 μ l): 20mM Tris-HCl (pH7.5 @ 25 $^{\circ}$ C), 1mM DTT, 1mM EDTA, 30pmol含胞嘧啶(C)残基的单链DNA, 10U的Uracil-DNA Glycosylase (*E. coli*) (D7360)和Endonuclease VIII (D6781), 以及不同浓度的APOBEC3A (A3A)。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:** 胞嘧啶脱氨变成尿嘧啶; EM-seq和ACE-seq等DNA甲基化高通量测序; 也可用于酶学动力学、抑制剂筛选和选择性分析。
- **来源:** 由大肠杆菌表达人源APOBEC3A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95%。
- **酶储存溶液:** 50mM Tris-HCl (pH7.4 @ 25°C), 50mM NaCl, 1mM DTT, 0.01% Tween-20, 50% Glycerol.
- **10X A3A Buffer:** 200mM Tris-HCl (pH7.5 @ 25°C), 10mM DTT, 10mM EDTA.
- **失活或抑制:** 加入适量0.5% SDS或酚氯仿抽提可以使Recombinant APOBEC3A (A3A)失活。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D6751S-1	Recombinant APOBEC3A (A3A) (0.25µg/µl)	100µl
D6751S-2	10X A3A Buffer	250µl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6751M-1	Recombinant APOBEC3A (A3A) (0.25µg/µl)	400µl
D6751M-2	10X A3A Buffer	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6751L-1	Recombinant APOBEC3A (A3A) (0.25µg/µl)	2ml
D6751L-2	10X A3A Buffer	5ml
—	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A3A将胞嘧啶脱氨基转化为尿嘧啶的反应。

a. 参考下表在冰浴中配制反应体系。

Reagent	Volume	Final concentration
Nuclease-free Water (ST876)	(17-x)µl	-
10X A3A Buffer	2µl	1X
ssDNA with C (10µM)	xµl	1.5µM
A3A (0.25µg/µl)	1µl	12.5ng/µl
Total volume	20µl	-

注1: 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ssDNA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ssDNA。

注2: 如果进一步检测A3A将胞嘧啶脱氨基转化为尿嘧啶的效果可在反应体系中同时加入Uracil-DNA Glycosylase (*E. coli*) (D7360)和Endonuclease VIII (D6781)。

b. 反应条件: 37°C孵育过夜。

c. 终止反应: 加入适量0.5% SDS或酚氯仿抽提可以使A3A失活。

- EM-seq:** 使用Recombinant APOBEC3A (A3A)、Recombinant Ten-Eleven Translocase 2 (TET2) (D6753)和T4 Phage β-glucosyltransferase (T4-BGT) (D6755)进行酶法甲基化测序请自行参考相关文献进行[2]。
- 其它应用请参考相关文献进行。

参考文献:

- Refsland EW, Harris RS. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2013. 371:1-27.
- 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
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
D6781	Endonuclease VIII	1KU/5KU/20KU
D7360	Uracil-DNA Glycosylase (<i>E. coli</i>)	1000U/5000U
R0212	DNA/RNA Loading Buffer (2X, for Denaturing PAGE)	2ml/10ml
R0243S	BeyoGel™ TBE-Urea PAGE预制胶(15%, 10孔)	10块
R0244S	BeyoGel™ TBE-Urea PAGE预制胶(15%, 15孔)	10块
ST876	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100ml/500ml

Version 2025.02.10