

CpG Methyltransferase (M.SssI)

REF: EG26204S

储存条件

-20℃保存 2 年

产品组成

组分	规格
CpG Methyltransferase (M.SssI) (4 U/μl)	25 μl
10× M.SssI Buffer	1 ml
SAM (32 mM)	100 μl

产品简介

CpG Methyltransferase (M.SssI), 中文名称 CpG 甲基转移酶, 简称 M.SssI, 来源于螺原体 (*Spiroplasma*) MQ1 菌株的甲基转移酶基因, 经大肠杆菌重组表达纯化后获得。CpG Methyltransferase (M.SssI) 会针对未甲基化或半甲基化双链 DNA 的 5'-CG-3' 序列中的胞嘧啶残基 (C⁵) 进行甲基化修饰, 是表观遗传学领域的重要工具酶之一, 可用于模拟真核生物基因组中的甲基化修饰, 探索胞嘧啶甲基化的功能等。

产品应用

1. 表观遗传学研究
2. DNA 体外甲基化用于甲基化分析
3. 识别重叠 CpG 序列抑制核酸内切酶
4. [³H] 标记 DNA

质量控制

蛋白纯度

经 SDS-PAGE 凝胶电泳检测, 蛋白纯度不低于 95%。

非特异性内切酶活性

37℃下, 在 20 μl 反应体系中将 4 U CpG Methyltransferase 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 少于 20% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

DNase 活性

37℃下, 在 20 μl 反应体系中将 4 U CpG Methyltransferase 与 15 ng 双链 DNA 片段共同温育 16 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 双链 DNA 片段无变化。

使用方法

① 在冰上配制如下反应体系:

试剂	使用量
DNA	X μl (≤1 μg)
10× M.SssI Buffer	2 μl
SAM (3.2 mM) ^a	1 μl
CpG Methyltransferase (M.SssI) (4 U/μl)	1 μl
ddH ₂ O	Up to 20 μl

a: 使用超纯水将适量 SAM (32 mM) 稀释 10 倍至 3.2 mM, 稀释后不宜长期保存使用。为保证 SAM 有效性, 请在最后加入 SAM, 以避免 SAM 在水溶液中降解。

② 轻柔吸打或轻弹管壁以混匀 (切勿涡旋), 然后瞬时离心以收集挂壁液滴;

③ 37℃孵育 15~60 min, 当需要甲基化的位点较多时, 可以适当加大酶的用量或延长反应时间;

④ 65℃孵育 20 min 终止反应。

注意事项

1. 使用新鲜配置的 SAM 可优化甲基化反应, 有条件的情况下可将 SAM 置于 -80℃保存, 以延长其保质期。

2. M.SssI 无需 MgCl₂ 作为辅因子。Mg²⁺ 存在时, M.SssI 的甲基化变得分散而非连续进行, 并且表现出拓扑异构酶活性。

3. 对于 CpG 甲基化敏感的限制酶, 若其识别位点包含序列 CG 或与其部分重叠, CpG 甲基转移酶可阻断这些内切酶的切割。此外, 经 CpG 甲基转移酶甲基化的 DNA 在大肠杆菌中受到 Mcr 和 Mrr 限制, 因此应使用 Mcr⁻ Mrr⁻ 大肠杆菌进行转化。

4. 胞嘧啶残基的甲基化影响 DNA 的物理特性, 包括降低 Z-DNA 形成的自由能、增加 DNA 的螺旋程度, 以及改变十字形突出的动力学特性。在化学测序方案中, 可通过 5- 甲基胞嘧啶对腈反应活性降低来确定其位置。

5. 体外甲基化应考虑 DNA 底物中 CpG 二核苷酸的高密度。例如, λDNA (48,502 bp) 包含 3112 个 CpG 位点, 因此 0.1 mg/ml λDNA 溶液的甲基转移酶甲基受体位点为 19 μM。而甲基供体 SAM 的推荐浓度为 160 μM, 超过受体位点的 8 倍, 反应能较好的进行; 若 λDNA 溶液浓度达到 1 mg/ml, 则其甲基受体超过 SAM 浓度, 反应无法充分进行。为保证反应的彻底性, 建议反应体系中的 DNA 溶液浓度不超过 0.02 mg/ml。

6. CpG Methyltransferase (M.SssI) 无法甲基化单链 DNA 和 RNA。

7. 本产品仅作科学研究使用, 不得用于其它用途。

8. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。