

pA-Tn5 Transposase (10 U/ μ L, without buffer)

产品信息

产品名称	产品编号	规格
	14529ES03	1 mL
pA-Tn5 Transposase (10 U/ μ L, without buffer)	14529ES20	20 mL
	14529ES50	50 mL

产品描述

Tn5 转座酶特异性识别转座子两端反向重复的 ME 序列(Mosaic End), 形成转座复合体后随机的将转座子插入靶 DNA 中。Protein A 偶联转座酶(Protein A-Tn5), 即通过将 Protein A 与改造的超高活性 Tn5 转座酶融合, 形成兼具双重活性的新型融合酶(pA-Tn5Transposase), 可在抗体引导下精准靶向切割目的蛋白附近的 DNA 序列, 适用于 CUT&Tag(Cleavage Under Targets and Tagmentation)技术。CUT&Tag 是替换传统的 ChIP-Seq 用以研究蛋白质-基因组互作的新技术, 与后者相比, 它具有显著优势, 如: 信噪比高, 可重复性好, 实验周期短 (1 天实现从细胞到文库构建), 细胞投入量低等, 该方法适用于表观遗传学、肿瘤、干细胞等研究领域。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格		
		14529ES03	14529ES20	14529ES50
14529	pA-Tn5 Transposase (10 U/ μ L, without buffer)	1 mL	20 mL	50 mL

【注】: 5 \times Tagment Buffer L含Mg²⁺, 用于测试制备的转座子片段化DNA的效果, 而非CUT&Tag工作Buffer。

产品应用

高通量建库; CUT&Tag;

运输与保存方法

干冰运输。-85~-65 $^{\circ}$ C保存, 有效期1年。

注意事项

1. 转座酶对温度敏感, 请在接收货物后建议尽快完成接头包埋, 生成的转座子可以放置于-20 $^{\circ}$ C保存。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
3. 本产品仅做科研用途!

使用方法

以高通量测序建库为例, 在使用前, 请务必仔细阅读使用说明。

1. 转座子生成

1.1 配置以下反应体系

表1. 转座子反应体系

组分	体积(μ L)
pA-Tn5 Transposase (10 U/ μ L, without buffer)	2
Adapter mix (100 μ M)	0.4
Assemble Buffer	Up to 20

注: Adapter mix根据实验目的以及测序平台, 自备。

1.2 反应条件

使用移液器轻轻吹打充分混匀。置于25°C反应1 h（热盖关闭）。反应产物命名为pA-Tn5 Mix，可直接应用于建库实验，或-20°C保存。

2. DNA片段化测试

2.1 配置以下反应体系

表 2. 片段化反应体系

组分	体积(μL)
Input DNA (50 ng/μL)	X
5×Tagment buffer	4
pA-Tn5 Mix	1
ddH ₂ O	To 20

【注】：*DNA 使用量越大，片段化产物平均长度越长；反之，片段化产物平均长度越短。

**如需提高打断程度，可提高pA-Tn5 Mix使用量；反之，可减少酶使用量。

2.2 片段化反应程序

轻轻吹打或振荡混匀，短暂离心。将上述PCR管置于PCR仪，按照表3所示反应程序，进行片段化反应。

表 3. 片段化反应程序

温度	时间
热盖 105°C	On
55°C	10 min
4°C	Hold

2.3 DNA 片段化终止

配置以下反应体系，在上述片段化产物中添加表 4 中各反应组分，使用移液器轻轻吹打 20 次混匀。

表 4. DNA 片段化终止体系

名称	体积(μL)
片段化产物	20
6×Terminate Solution	4
Total	24

设置以下反应程序：

表 5. DNA 片段化终止程序

温度	时间
热盖 105°C	On
55°C	10 min
4°C	Hold

待样品温度降到 4°C 后，取出 PCR 管，进行片段化产物纯化，可使用 21 μL ddH₂O 进行洗脱。

2.4. 片段化产物质量控制

- 使用 Qubit 进行浓度测定；
- 使用 Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer 进行长度分布检测。

2.5 片段化产物扩增

可根据具体的实验目的与测序平台选择合适的试剂进行扩增实验。