

Hieff® Fast Tagmentase (1 U/ μ L)

产品简介

Hieff® Fast Tagmentase 是野生型 Tn5 转座酶的突变形式, 可识别 Tn5 转座子酶序列的内端(inside end, IE)、外端(outside end, OE)和嵌合端(mosaic end, ME)序列, 含有 ME 序列片段的转座效率最高。该产品可高效、随机的将 Tn5 转座子插入到目标序列, 被广泛应用于体外转基因和二代测序建库等领域。

产品信息

货号	12900ES10/12900ES60
规格	10 U/100 U

组分信息

组分编号	组分名称	12900ES10	12900ES60
12900-A	Hieff® Fast Tagmentase	10 μ L	100 μ L
12900-B	Assemble Buffer	500 μ L	5 mL
12900-C	5 $\times$ Reaction buffer	500 μ L	5 mL
12900-D	6 $\times$ Terminate Solution	500 μ L	5 mL

储存条件

组分 A(Hieff® Fast Tagmentase)于-85~-65 $^{\circ}$ C 保存, 接收货物后应在一个月内完成接头组装, 装配产物-15~-25 $^{\circ}$ C 保存; 其余组分-15~-25 $^{\circ}$ C 保存。有效期 1 年。

使用说明

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. 接头制备

1) Illumina 平台参考引物名称及序列:

Primer A: 5'-phos-CTGTCTCTTATACACATCT-NH₂-3'

Primer B: 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-3'

Primer C: 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-3'

2) 使用 Annealing Buffer 溶解 Primer A、Primer B、Primer C 至 100 μ M。

3) 分别配制如下反应体系:

组分	反应 1
Primer A (100 μ M)	10 μ L
Primer B (100 μ M)	10 μ L
total	20 μ L

组分	反应 2
Primer A (100 μ M)	10 μ L
Primer C (100 μ M)	10 μ L
total	20 μ L

4) 分别将反应 1 和反应 2 涡旋振荡充分混匀, 并短暂离心使溶液回到管底。置于 PCR 仪内, 进行如下反应程序: 热盖 105°C On, 94°C 加热 2 min。时间到后, 停止反应程序, 不要打开热盖, 让 PCR 管在 PCR 仪器中自然冷却 2 h, 然后再于 4°C 中放置 5 min。

5) 反应结束后, 将反应 1 和反应 2 等体积混合, 混匀。命名为 Adapter Mix, -25~-15°C 保存。

2. 转座子生成

1) 配置以下反应体系:

组分	体积 (μ L)
Hieff® Fast Tagmentase(1 U/ μ L)	10
Adapter mix (25 μ M)*	0.8
Assemble Buffer	Up to 20

*Adapter mix 根据实验目的以及测序平台, 自备。

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 Tn5 Mix, 可直接应用于建库实验, 或 -25~-15°C 保存。

3. DNA 片段化测试

1) 配置以下反应体系:

组分	体积 (μ L)
Input DNA (50 ng/ μ L)	1*
5 $\times$ Reaction buffer	4
Tn5 Mix	2**
ddH ₂ O	Up to 20

*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 Tn5 Mix 使用量; 反之, 可减少酶使用量。

2) 片段化反应程序

轻轻吹打或振荡混匀, 短暂离心。按照下表所示反应程序, 进行片段化反应。

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

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下表中各反应组分, 使用移液器轻轻吹打 20 次混匀。

组分	体积 (μ L)
片段化产物	20
6 $\times$ Terminate Solution	4
Total	24

按照下表所示反应程序，进行终止反应。

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，可以选择 1.2×磁珠纯化，推荐使用 Hieff NGS® DNA Selection Beads (Cat#12601ES)，最终使用 21 μ L ddH₂O 洗脱片段化产物。

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。

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。

注意事项

- 本产品仅作科研用途。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。