

pA-Tn5 转座酶

P745696

储存条件

-20°C, 避免反复冻融, 一年有效期。

产品简介

本公司生产的 pA-Tn5 Transposase, 中文名为 pA-Tn5 转座酶, 是一种来源于 E.coli, 经过改造的具有极高活性 Tn5 转座酶突变体和 Protein A 的融合蛋白。pA-Tn5 转座酶在和适当测序接头(Adapters)组装后成为 pA-Tn5 Transposome (pA-Tn5 转座体), 可用于 CUT&Tag 实验。CUT&Tag (Cleavage Under Targets and Tagmentation), 即靶向剪切及标记, 是一种新兴的蛋白质与 DNA 相互作用的研究方法, 具有特异性强、背景噪音较低、灵敏度高、重复性较好、成本低等优点, 被用来替代传统的 ChIP-Seq (Chromatin Immunoprecipitation-sequencing)方法。CUT&Tag 技术的核心是利用 pA/G-Tn5 Transposome 上的 Protein A 或 Protein G 具有与靶蛋白上结合的抗体特异性结合的能力, 使 Tn5 转座体能够通过 Protein A/G 及抗体与靶蛋白形成复合物, 随后加入 Mg^{2+} 激活 Tn5 转座体的酶活性对靶蛋白结合的 DNA 进行切割实现靶向的 DNA 片段化(DNA Fragmentation), 同时将其携带的测序接头连接到片段两端从而实现标记, 后续通过 PCR 反应进行缺口填补, 并借助双端标记 PCR 引物 (Dual-indexed PCR primers)扩增后, 制备成适用于二代测序(Next generation sequencing, NGS)平台的 DNA 文库。

来源 (Source)	Tn5 转座酶的变体, 来源于 Tn5 转座子
外观 (Appearance)	无菌液体
保存液 (Storage Buffer)	50mM HEPES (pH7.2), 100mM NaCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 0.1% Triton X-100, 50% (v/v) Glycerol。
酶浓度 (Enzyme Concentration)	40 μ M
纯度 (Purity)	\geq 95%
活性定义 (Activity Definition)	超活性突变, 高效快速反应

组分和说明

P745696	Component	800pmol	5*800pmol	Storage
P745696	pA-Tn5 Transposase (40 μ M)	20 μ l	5*20 μ l	-20°C, Avoid freeze/thaw cycle.

产品应用

pA-Tn5 转座酶在和适当测序接头(Adapters)组装后成为 pA-Tn5 Transposome (pA-Tn5 转座体), 可用于 CUT&Tag 实验。

产品优势

与野生型 Tn5 转座酶相比，插入效率至少提升 1000 倍，具有转座随机性好、稳定性高、插入位点易测序等特点。

使用说明

构建 CUT&Tag 实验所需的 pA-Tn5 转座体。

1. ME 和接头(Adapters)的序列。

ME: 5'-[phos]CTGTCTCTTATACACATCT-3'

Primer 1: 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-3'

Primer 2: 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-3'

注：本接头序列参考 DNA Sample Preparation Kit，也可按照不同高通量测序的要求进行设计。

2. 制备 Adapter 1 和 Adapter 2。

按照下表分别配制 Adapter 1 和 Adapter 2 退火反应体系。退火反应后 Adapter 1 或 Adapter 2 的终浓度为 200 μ M。

Component	Volume
Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)	10 μ l
ME (500 μ M)	20 μ l
Primer-1 or 2 (500 μ M)	20 μ l
Total Reaction Volume	50 μ l

使用 PCR 仪按下表设置退火反应程序，反应结束即可获得 Adapter 1 和 Adapter 2。

Step	Temperature
1	95°C, 2min
2	95°C, 8s, -0.1°C per cycle
3	GOTO step 2700 cycles
4	4°C forever

3. pA-Tn5 转座体的制备。

按照下表，将 pA-Tn5 Transposase、Adapter 1 和 Adapter 2 按摩尔比 1:0.5:0.5 混合，吹打混匀，室温孵育 1 小时。

Component	Volume
pA-Tn5 Transposase (40 μ M)	10 μ l
Adaptor 1 (200 μ M)	1 μ l
Adaptor 2 (200 μ M)	1 μ l

注：可根据实验需要适当提高 pA-Tn5 Transposase 的混合比例，但 Adapter 1 和 Adapter 2 的浓度需要保持一致。制备好 Tn5 转座体可直接用于 CUT&Tag 实验，也可以 -20°C 保存。

注意事项：

(1) 本产品含 50%甘油，-20°C 保存不会冻结。须避免 -80°C 保存，否则会冻结，反复冻融



可能会降低本产品的酶活性。

(2) 本产品较为粘稠, 吸取时注意取样量准确, 加样后请注意充分吹打混匀, 避免产生气泡。

(3) 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。

(4) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

