pAG-Tn5 Transposome

产品目录号：RK20264

产品组分

组分名称	组分编号	规格-1 12 μL	规格-2 48 μL
pAG-Tn5 Transposome	RM20677	12 μL	48 μL

产品说明

pAG-Tn5 是将 Protein A/Protein G 与一种高活性、突变形式的 Tn5 转座酶进行融合，同时具备 Tn5 转座酶和 Protein A/Protein G 的功能。pAG-Tn5 转座酶单体分子量约 75 kD，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，但识别 ME 序列片段的转座效率最高。

本产品融合的是突变形式的 Tn5 转座酶，识别 ME 序列，在体外转座效率比野生型高 1000 倍。Tn5 转座酶与 19 bp ME 序列结合形成 Transposome（转座体），然后该转座体随机攻击并切割靶 DNA 的磷酸二酯键，最后，Tn5 转座酶催化 ME 的 3′-OH 末端与靶 DNA 暴露的 5′-磷酸化末端形成磷酸二酯键，即完成转座反应(DNA 片段化或者 DNA 插入)。转座反应会在转座位置的另一条 DNA 链上产生 9 bp 的 gap。

本产品融合的 Protein A/Protein G 主要通过与免疫球蛋白（Ig）的 Fc 区相互作用，可与大多数哺乳动物的 IgG 结合。本产品为已完成接头组装的 pAG-Tn5 转座酶复合体，可直接应用于 CUT&Tag 实验中核心酶替换。

产品来源

pAG-Tn5 转座酶蛋白在大肠杆菌中重组表达并纯化获得。

保存温度

-20℃

应用

二代测序建库，ATAC-seq，CUT&Tag

分子量

75 kD

浓度

摩尔浓度：4 μM

反应条件

在 1X Tagment Buffer 反应内，37℃ 或 55℃*反应（针对不同应用使用不同反应温度）。

***注：不同应用推荐的反应温度不同，体外实验推荐 55℃反应，体内实验推荐 37℃反应。**

终止反应

加入 Termination Buffer，转座反应可被终止。

E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

操作说明

1. DNA 片段化

(1) 在无菌 PCR 管中准备如下 DNA 片段化体系（可以根据需要等比例放大/缩小打断体系）：

试剂	加入量
5X Tagment Buffer（RM20250)	4 μL
gDNA *	X μL
pAG-Tn5 Transposome **	1 μL
ddH_2O	Up to 20 μL

***注：gDNA 根据实验需求进行投入。**

****注：pAG-Tn5 Transposome 加入量需要根据模板入量进行计算，若后续结果出现打断片段偏大则表明模板过多、转座复合体投入过少，反之亦然，可根据实验打断的片段大小需要来进行滴定调整。**

(2) 使用移液器上下吸打，充分混匀。

(3) 将 PCR 管放到 PCR 仪上（热盖温度 75℃），进行如下的反应程序：

反应温度	反应时间	循环数
55℃ *	5-15 min **	1
12℃	Hold	1

***注：不同应用推荐的反应温度和反应时间不同，体外实验推荐 55℃反应 15 min，体内实验推荐 37℃反应 1 hr。**

****注：可以根据实验需要，适当延长反应时间，确保充分反应。**

2. 终止反应

(1) DNA 片段化反应结束，立即加入 2 μL Termination Buffer (RM20251)，涡旋混匀或使用移液器上下吸打混匀。

(2) 室温孵育 5 min，避免片段大小有波动。

***注：此步骤是终止打断反应，使转座酶和 DNA 片段相互分离；若不进行此步骤会导致文库产量降低。**

3. 片段化产物扩增

(1) 在 PCR 管中配制以下组分：

试剂	加入量
片段化 DNA	22 μL
PCR Mix *	23 μL
N5 Primer（10 μM）	2.5 μL
N7 Primer（10 μM）	2.5 μL
ddH_2O	Up to 50 μL

***注：PCR mix 需用非热启动的 Taq 酶，比如 ABclonal 的 RM20242。**

(2) 混匀，快速离心后放入 PCR 仪中开始循环程序（热盖温度 105℃）：

步骤	反应温度	反应时间	循环数
补齐 Gap	**72℃**	**3 min ***	**1**
预变性	98℃	30 s	1
变性	98℃	15 s	
退火	60℃	30 s	N **
延伸	72℃	1 min	
终延伸	72℃	5 min	1
Hold	4℃	Hold	--

***注：72℃孵育 3 min 为缺口修复过程，此步骤不可省略。**

****注：扩增循环数可根据起始 DNA 投入量和实验需求进行调整。1 ng--13-15 个循环；5 ng--11-12 个循环；50 ng--7-8 个循环。**

E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

产品推荐

ABclonal 公司提供文库 illumina 平台扩增配套 index 试剂盒，可以根据需要进行订购。

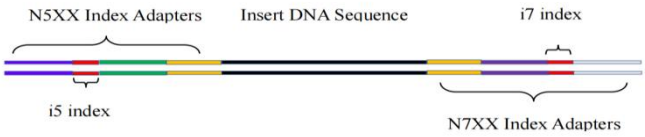
RK20290：Dual DNA Adapter 96 Kit for One-step DNA Lib Prep

RK20265：CUT&Tag Assay Kit (pAG-Tn5) for illumina

N5XX 和 N7XX 的序列

N5XX：5′-AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC[XXXXXXXX]TCGTCGGCAGCGTC-3′

N7XX：5′-CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT[XXXXXXXX]GTCTCGTGGGCTCGG-3′



适配 illumina®测序平台的 Tn5 接头序列

MErev：5′-phos-CTGTCTCTTATACACATCT-3′

ME-A：5′-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-3′

ME-B：5′-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-3′

E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.