



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

BeyoNGS™ pG-Tn5 Transposase

产品编号	产品名称	包装
D7112S	BeyoNGS™ pG-Tn5 Transposase	800pmol
D7112M	BeyoNGS™ pG-Tn5 Transposase	4000pmol

产品简介:

- 碧云天生产的BeyoNGS™ pG-Tn5 Transposase, 中文名为BeyoNGS™ pG-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 G的融合蛋白。pG-Tn5转座酶在和适当测序接头(Adapters)组装后成为pG-Tn5 Transposome (pG-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Mg²⁺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 [1]。
- BeyoNGS™ pG-Tn5 Transposase是由碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化获得的重组蛋白, 与野生型Tn5转座酶相比, 其插入效率至少提升1000倍, 具有转座随机性好、稳定性高、插入位点易测序等特点。
- **酶储存溶液:** 50mM HEPES (pH7.2), 100mM NaCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 0.1% Triton X-100, 50% (v/v) Glycerol。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7112S	BeyoNGS™ pG-Tn5 Transposase (40μM)	20μl
D7112M	BeyoNGS™ pG-Tn5 Transposase (40μM)	100μl
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 一年有效。

注意事项:

- 本品含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。
- 本品较为粘稠, 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。
- 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。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

构建CUT&Tag实验所需的BeyoNGS™ pG-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Nextera® DNA Sample Preparation Kit (Illumina, FC-121-1030), 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200μM。

Component	Volume
Annealing Buffer for DNA Oligos (5X) (D0251)	10μl
ME (500μM)	20μl
Primer-1 or 2 (500μM)	20μl
Total Reaction Volume	50μl

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. BeyoNGS™ pG-Tn5转座体的制备。

按照下表，将BeyoNGS™ pG-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
BeyoNGS™ pG-Tn5 Transposase (40μM)	10μl
Adaptor 1 (200μM)	1μl
Adaptor 2 (200μM)	1μl

注：可根据实验需要适当提高BeyoNGS™ pG-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保存备用。

参考文献：

1. Hatice S. Nat Commun. 2019.10: 1930.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0251	Annealing Buffer for DNA Oligos (5X)	1ml
D7102S	BeyoNGS™ Tn5 Transposase	800pmol
D7102M	BeyoNGS™ Tn5 Transposase	4000pmol
D7103S	BeyoNGS™ DNA Library Quick-Prep Kit (For Illumina)	20次
D7103M	BeyoNGS™ DNA Library Quick-Prep Kit (For Illumina)	100次
P2156-200μl	BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)	200μl
P2156-1ml	BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)	1ml
P2156-5ml	BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)	5ml
D7110S	BeyoNGS™ pA-Tn5 Transposase	800pmol
D7110M	BeyoNGS™ pA-Tn5 Transposase	4000pmol
D7112S	BeyoNGS™ pG-Tn5 Transposase	800pmol
D7112M	BeyoNGS™ pG-Tn5 Transposase	4000pmol

Version 2022.05.25