

## Tn5 转座酶

### Tn5 Transposase

Code No. AG12513

包装量: 10  $\mu\text{g}$  / 20  $\mu\text{l}$   
保存温度:  $-80^{\circ}\text{C}$

#### 产品概述

本产品是野生型 Tn5 转座酶的突变体形式，可以高效地将 Tn5 转座子(Transposon)随机插入到目标序列。本产品可以特异性识别两端含有嵌合末端序列(Mosaic End sequence, ME)的 DNA 片段(包括含有 ME 序列的引物)，最终组装形成 Tn5 转座体(Tn5 Transposome)，该转座体可以随机结合靶 DNA 并切割，同时插入其携带的 DNA 片段。

Tn5 转座酶被广泛用于体外转基因(外源基因整合到宿主细胞)和二代测序(Next Generation Sequencing, NGS)建库等领域。

#### 产品组成

Tn5 Transposase (0.5 mg/ml)	20 $\mu\text{l}$
5X Tn5 Reaction Buffer	500 $\mu\text{l}$
5X Stop Buffer	500 $\mu\text{l}$

#### 保存及运输

保存温度: 收到货后，将产品于  $-80^{\circ}\text{C}$  保存。

运输温度: 干冰运输。

#### 注意事项

- Tn5 Transposase 对温度敏感，收到货后需尽快完成接头的包埋，制备好的转座体需  $-80^{\circ}\text{C}$  保存；同时也应避免酶与转座体的反复冻融。
- Tn5 Transposase 较粘稠，吹打时容易产生气泡，使用前需将 Tn5 Transposase 在  $4^{\circ}\text{C}$  短暂离心，将所有的溶液收集至离心管底部，减少损失，并用移液器轻柔吸打混匀(避免起泡)；使用时建议将转座酶插入冰中；使用完毕后立即放回  $-80^{\circ}\text{C}$  保存。
- 5X Tn5 Reaction Buffer 使用前请于冰上充分融化，短暂离心，将所有的溶液收集至离心管底部，减少损失，并用移液器轻柔吸打混匀(避免起泡)，然后进行使用。
- 可根据产物片段的大小调整转座体用量，如果产物片段过长，则需适当增加转座体的使用量；如果产物片段过短，则减少转座体的使用量。
- 在一定酶量下，底物 DNA 使用量越大，片段化产物的平均长度越长，反之片段化产物的长度越短。

#### 应用范围

- 二代测序(NGS)文库构建时的片段化和添加测序接头。
- 将测序引物引入 DNA 片段或质粒。
- 目的基因的插入失活；将启动子、抗性标记等插入靶 DNA。

#### 使用说明(以二代测序建库，生成 Illumina 测序平台转座体为例)

##### 1. 转座体制备

- 1) 在无菌 PCR 管中依次添加各组分：

组分	制备体系
Tn5 Transposase (0.5 mg/ml) *1	20 $\mu\text{l}$
Adapter Mix*2	a $\mu\text{l}$
Total	20-40 $\mu\text{l}$

- 2) 配制好后用移液器轻柔吹打混匀 10 次。

- 3) 置于  $25^{\circ}\text{C}$  PCR 仪中进行孵育 1h，制成的转座体可  $-80^{\circ}\text{C}$  保存 6-12 个月。

\*1: 需从管中吸取出 20  $\mu\text{l}$  进行制备。0.5 mg/ml 的 Tn5 Transposase 对应摩尔浓度为 9.38 pmol/ $\mu\text{l}$ 。

\*2: Adapter Mix 为测序所需的接头引物。如下例，将 Primer 1 和 Primer 2 退火制成 Primer A，Primer 1 和 Primer 3 退火制成 Primer B；再将 Primer A 和 Primer B 按照体积比 1:1 制备成 Adapter Mix，且 Adapter Mix 的浓度为 Primer A 与 Primer B 的摩尔浓度之和；在制备转座体时，Adapter Mix 需与 Tn5 Transposase 的摩尔比为 1:1 进行添加。

例如：

Primer 1: 5' -CTGTCTCTTATACACATCT-3'

Primer 2: 5' -TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-3'

Primer 3: 5' -GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-3'

## 2. 转座体片段化测试

1) 5X Tn5 Reaction Buffer 需放至冰上解冻后，充分吹打混匀后备用。

2) 在无菌的 PCR 管中依次添加各组分：

组分	制备体系
5X Tn5 Reaction Buffer	4 $\mu$ l
转座体	X $\mu$ l <sup>3</sup>
模板 DNA	Y ng <sup>4</sup>
RNase Free H <sub>2</sub> O	Up to 20 $\mu$ l

\*3：转座体的用量根据所加入模板 DNA 的量决定，X 的推荐使用范围为 5–10 pmol。

\*4：Y 的推荐使用范围为 50–100 ng。

3) 按照上述表格配制好后的反应液，用移液器轻柔吹打混匀 10 次后，放入 PCR 仪 进行片段化反应，程序如下：

步骤	温度	时间
1	55 °C	10 min
2	4 °C	10 min

4) 反应完成后需进行片段化终止：

配制以下反应体系，在上述片段化产物中添加下表反应组分，使用移液器轻柔吹打 10 次混匀。

组分	制备体系
上述片段化产物	20 $\mu$ l
5X Stop Buffer	5 $\mu$ l
Total	25 $\mu$ l

5) 按照下表程序设置终止反应：

步骤	温度	时间
1	55 °C	10 min
2	4 °C	10 min

6) 片段化后的产物无需纯化，可用于后续文库扩增及构建，也可对上述产物进行回收，用于片段化分析及其他实验。