

# Tn5 转座酶

## Tn5 Transposase

Code No. AG12513

包装量: 10 μg / 20 μl

保存温度: -80 °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 μl
5X Tn5 Reaction Buffer	500 μl
5X Stop Buffer	500 μl

### 保存及运输

保存温度：收到货后，将产品于 -80°C 保存。

运输温度：干冰运输。

### 注意事项

1. 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°C 保存；同时也应避免酶与转座体的反复冻融。
2. Tn5 Transposase 较粘稠，吹打时容易产生气泡，使用前需将 Tn5 Transposase 在 4°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°C 保存。
3. 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。
4. 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。
5. 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

1. 二代测序( NGS )文库构建时的片段化和添加测序接头。
2. 将测序引物引入 DNA 片段或质粒。
3. 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 μl
Adapter Mix *2	a μl
Total	20–40 μl

- 2) 配制好后用移液器轻柔吹打混匀 10 次。

- 3) 置于 25°C PCR 仪中进行孵育 1h，制成的转座体可 -80°C 保存 6–12 个月。

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

\*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' -CTGTCCTTACACATCT-3'  
 Primer 2: 5' -TCGTCGGCAGCGTCAGATGTATAAGAGACAG-3'  
 Primer 3: 5' -GTCTCGTGGCTCGGAGATGTATAAGAGACAG-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 μl
转座体	X μl <sup>3</sup>
模板 DNA	Y ng <sup>4</sup>
RNase Free H <sub>2</sub> O	Up to 20 μl

\*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 μl
5X Stop Buffer	5 μl
Total	25 μl

- 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。