

## 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	10 μg
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. 5 X 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) <sup>*1</sup>	20 μl
Adapter Mix <sup>*2</sup>	a μl
Total	20-40 μl

- 2) 配制好后用移液器轻柔吸打混匀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。

<sup>\*1</sup> 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。

<sup>\*2</sup> Adapter Mix为测序所需的接头引物。如下例，将Primer 1和Primer2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 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

\*<sup>3</sup> 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。

\*<sup>4</sup> 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：

Step	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：

Step	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。