

## Tn5 Transposase (10 U/ $\mu$ L)

### 产品简介

Tn5 Transposase 是野生型 Tn5 转座酶的突变形式。Tn5 转座酶是 Tn5 转座子的核心酶，具有高效的切割和插入活性。Tn5 转座酶识别其转座子序列的内端(inside end, IE)、外端(outside end, OE)和嵌合端(mosaic end, ME)序列。利用其转座原理，能携带核酸打断并连接入底物核酸序列中，形成打断和插入机制，广泛应用于体外转基因以及转座酶法建库中。

### 产品信息

货号	14524ES60/14524ES76
规格	100 U/500 U

### 组分信息

组分名称	14524ES60	14524ES76
Tn5 Transposase (10 U/ $\mu$ L)	10 $\mu$ L	50 $\mu$ L

### 储存条件

-85~-65°C保存，有效期 1 年。

### 使用说明

以高通量测序建库为例，在使用前，请务必仔细阅读使用说明。

#### 1. 接头制备

##### 1) Illumina 平台参考引物名称及序列：

Primer A: 5'-phos-CTGTCTCTTATACACATCT-NH<sub>2</sub>-3'

Primer B: 5'-TCGTCCGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-3'

Primer C: 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-3'

##### 2) 使用 Annealing Buffer 溶解 Primer A、Primer B、Primer C 至 100 $\mu$ M。

##### 3) 分别配制如下反应体系：

组分	反应 1
Primer A (100 $\mu$ M)	10 $\mu$ L
Primer B (100 $\mu$ M)	10 $\mu$ L
total	20 $\mu$ L

组分	反应 2
Primer A (100 $\mu$ M)	10 $\mu$ L
Primer C (100 $\mu$ M)	10 $\mu$ L
total	20 $\mu$ L

4) 分别将反应 1 和反应 2 涡旋振荡充分混匀，并短暂离心使溶液回到管底。置于 PCR 仪内，进行如下反应程序：热盖 105°C On, 94°C 加热 2 min。时间到后，停止反应程序，不要打开热盖，让 PCR 管在 PCR 仪器中自然冷却 2 h，然后置于 4°C 中放置 5 min。

5) 反应结束后，将反应 1 和反应 2 等体积混合，混匀。命名为 Adapter Mix, -25~-15°C 保存。

## 2. 转座子生成

1) 配置以下反应体系：

组分	体积 (μL)
Tn5 Transposase (10 U/μL)	2
Adapter mix (25 μM)*	1.6
Assemble Buffer	Up to 20

\*Adapter mix 根据实验目的以及测序平台，自备。

2) 反应条件：使用移液器轻轻吹打充分混匀。置于 25°C 反应 1 h (热盖关闭)。反应产物命名为 Tn5 Mix, 可直接应用于建库实验，或 -25~-15°C 保存。

## 3. DNA 片段化测试

1) 配置以下反应体系：

组分	体积 (μL)
Input DNA (50 ng/μL)	X*
5×Tagment buffer	4
Tn5 Mix	1**
ddH <sub>2</sub> O	Up to 20

\*DNA 使用量越大，片段化产物平均长度越长；反之，片段化产物平均长度越短。

\*\*如需提高打断程度，可提高 Tn5 Mix 使用量；反之，可减少酶使用量。

2) 片段化反应程序

轻轻吹打或振荡混匀，短暂离心。按照下表所示反应程序，进行片段化反应。

温度	时间
热盖 105°C	On
55°C	10 min
4°C	Hold

3) DNA 片段化终止

配置以下反应体系，在上述片段化产物中添加下表中各反应组分，使用移液器轻轻吹打 20 次混匀。

组分	体积 (μL)
片段化产物	20
6×Terminate Solution	4
Total	24

按照下表所示反应程序，进行终止反应。

温度	时间
热盖 105°C	On
55°C	10 min
4°C	Hold

待样品温度降到 4°C 后，取出 PCR 管，进行片段化产物纯化，可以选择 1.2×磁珠纯化，推荐使用 Hieff NGS® DNA Selection Beads (Cat#12601ES)，最终使用 21 μL ddH<sub>2</sub>O 洗脱片段化产物。请勿使用 TE 等含金属离子络合剂的缓冲液洗脱片段化产物！

4) 片段化产物质量控制

- a. 使用 Qubit 进行浓度测定。
- b. 使用 Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer 进行长度分布检测。

5) 片段化产物扩增

可根据具体的实验目的与测序平台选择合适的试剂进行扩增实验。

### 注意事项

1. 转座酶对温度敏感，建议尽快完成接头包埋，生成的转座子可于-25~-15°C保存，有效期 1 年。
2. 本产品仅作科研用途。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
4. 该产品不提供 Buffer，如需转座酶加 Buffer，可采购 Cat#12900ES。