

# MDmaker®Tn5 转座酶



适用于 Illumina 平台的二代测序建库酶

Catalog # MD-3001

规格: 25U、100U

公司网址: [www.mdtkbio.com](http://www.mdtkbio.com)

服务电话: 18601040016

企业邮箱: [support@mdtkbio.com](mailto:support@mdtkbio.com)

## [产品描述]

### 概述

MDmaker®Tn5 转座酶是野生型 Tn5 转座酶的高活性突变体，可以高效的将 Tn5 转座子插入到目标序列。MDmaker®Tn5 转座酶识别 Tn5 转座子酶序列的内端 (inside end, IE) 、外端 (outside end, OE) 、和嵌合端 (mosaic end, ME) 序列，含有 ME 序列片段的体外转座效率最高。MDmaker®Tn5 转座酶的插入位点具有很高的随机性，因此被广泛的用于体外转基因（外源基因整合到宿主细胞）和二代测序建库等领域。

### 来源

含有 MDmaker®Tn5 转座酶序列的大肠杆菌菌株。

### 应用

- 1) 体外转基因操作
- 2) 二代测序建库

## [组分&说明]

**储存:** -20°C可保存 24 个月；避免反复冻融。

**组成:**

### MDmaker®Tn5 转座酶组分

组分	25U pack size	125U pack size
MDmaker®Tn5 转座酶 (1U/uL)	25uL	25uL×5
5×LM 缓冲液	100uL	100uL×5
10×TPS 缓冲液	100uL	100uL×5

**Buffer 组分:**

- 1) 贮存溶液: 50mM Tris-HCL (pH 8.0 at 25°C) , 100mM NaCl, 0.1mM EDTA, 0.1%Triton X-100 和 50%甘油 (v/v) ；
- 2) 反应缓冲液: (随酶提供) 5×LM 缓冲液；
- 3) 10×TPS 缓冲液: 100mM Tris, pH7.5-8.0,500mM NaCl。

**单位定义:**

1 单位 MDmaker®Tn5 转座酶指 37°C条件下反应 1 小时，完全切割 1ug 含有识别序列的 DNA 片段所需要的酶量。

## [使用方法]

### 1. 体外基因操作

MDmaker<sup>®</sup>Tn5 转座酶可以将含有成对识别序列的双链 DNA 片段（如下图所示）随机整合到宿主细胞的基因组中。整合的过程分为两步；

首先，MDmaker<sup>®</sup>Tn5 转座酶同含有选择标记和识别序列的目标基因片段结合，形成转座体（Transposome）；之后，通过转化的方式将转座体导入宿主细胞，利用选择标记筛选成功整合目标基因的宿主细胞。



1.1 转座体的构建，将下面组分加入到反应体系中：

组分	体积
MDmaker <sup>®</sup> Tn5 转座酶	4uL
目标基因片段（含有选择标记和成对识别序列，100ug/ml）	2uL
100%甘油	2uL

1.2 充分混匀，室温（25°C）放置 30 分钟；

1.3 反应产物也可放置于-20°C备用；

1.4 取 1-4uL 反应产物进行后续的转化实验。

### 2 二代测序建库

#### 2.1 转座体（Transposome）的构建

2.1.1 将下列组分加入到反应体系中（识别序列以 ME 为例）；

注：其中 ME 序列必须为双链，且末端磷酸化，接头序列按照二代测序仪器的要求进行配置。

组分	体积
连接有 ME 序列的接头（10pmol/uL）	1.5-4uL
10×TPS 缓冲液	2uL
无菌水	至 20uL

2.1.2 充分混匀于 PCR 管内；

2.1.3 将管子至于 95°C 恒温箱内 2min；

2.1.4 然后，逐渐平衡到 25°C；

2.1.5 加入 1-2uL Tn5 转座酶；

2.1.6 充分混匀并孵育在 25°C，30min；

2.1.7 反应后的 Transposome 转座体可立即进行后续反应，也可-20°C 保存。

#### 2.2 片段化反应（Tagmentation）

2.2.1 将下列组分加入到反应体系中

组分	体积
人基因组 DNA	~50ng
5×LM 缓冲液	6uL
转座体（Transposome）	4ul

## 2.2.2 对照体系中的转座体 (Transposome) 用水代替

2.2.3 充分混匀, 孵育 37°C, 2 小时, 或 55°C, 10~15min;

如果片段化反应结果不理想（如片段较大），可采取下面三种方式：

1. 在转座体构建步骤变更 ME 序列和 Tn5 转座酶的用量
  2. 在片段化反应步骤变更转座体的用量
  3. 在片段化反应中添加 1-5mM 的  $Mg^{2+}$  离子 ( $MgCl_2$ )

2.2.4 测序前，所得片段可以用试剂盒或者磁珠进行纯化。如果片段不经纯化直接进行 PCR 富集，片段中的转座酶可能会影响 PCR 过程

## 【质量控制】

核酸外切酶活性：50uL 反应体系中，20U 本酶与 1ug 的 HindⅢ消化的λDNA 于 37℃温育 4 小时，DNA 的电泳条带无明显变化。

RNAse 活性: 50uL 反应体系中, 100U 本酶与 250ug 大肠杆菌 rRNA 于 37°C温育 2 小时, 经琼脂糖电泳检测, 被降解的 rRNA 小于 1%。

消化结果如图：

## The relationship between fragment size and amount of enzyme

