

Version 2

Code No. AG12566

AG12567

# *AccuNext* ATAC 测序文库制备试剂盒 ( Illumina )

## *AccuNext* ATAC-seq Library Prep Kit for Illumina

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.



## 目录

|                                                          |    |
|----------------------------------------------------------|----|
| ➤ 产品概述 .....                                             | 1  |
| ➤ 产品组成 .....                                             | 1  |
| ➤ 保存及运输 .....                                            | 2  |
| ➤ 实验原理及流程 .....                                          | 2  |
| ➤ 产品优势 .....                                             | 3  |
| ➤ 使用注意事项 .....                                           | 3  |
| ➤ 实验前准备 .....                                            | 5  |
| ➤ 操作方法 .....                                             | 5  |
| A. Cell Lysis Buffer 配制 .....                            | 5  |
| B. 细胞核提取 .....                                           | 5  |
| C. 转座体片段化 .....                                          | 6  |
| D. DNA 纯化 .....                                          | 7  |
| E. 文库扩增 .....                                            | 7  |
| F. 文库分选 .....                                            | 8  |
| G. 文库质量检测 .....                                          | 9  |
| ➤ 实验例 .....                                              | 10 |
| ➤ 附录 1: <i>AccuNext</i> 转座体建库适配接头引物 (Illumina) 的信息 ..... | 11 |

## ➤ 产品概述

本产品是针对 Illumina 高通量测序平台研发的用于 ATAC-seq 文库构建试剂盒，适用于  $10^3 \sim 10^5$  个细胞起始量的样本建库。ATAC-seq ( Assay for Transposase Accessible Chromatin with high-throughput sequencing ) 是一种通过转座酶介导的高通量测序技术，可快速检测全基因组范围内的染色质开放区域；它能揭示染色质可及性与基因表达调控的关联，为表观遗传研究提供关键线索；适用于染色体开放性图谱绘制、胚胎发育、疾病潜在标志物的预测、肿瘤发生等表观遗传学研究。

本产品使用含有部分 illumina 测序接头的 Tn5 转座体，结合染色质开放区域，对裸露 DNA 进行切割的同时加上测序接头，经 PCR 扩增后可获得测序文库，具有细胞起始范围广、实验周期短、信噪比高、应用范围广等优势。

本产品的反应体系经过了精心优化，实验中所有试剂请使用本产品中提供的，不建议改变任何反应组分或用其他的等效产品替换本产品中组分，以免获得不好的实验结果。如需替换，请先进行验证。

## ➤ 产品组成

Package 3-1 组分如下 ( -80°C 保存 ) :

| 组分名称                            | AG12566<br>( 4 rxns ) | AG12567<br>(12 rxns ) |
|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| <i>AccuNext</i> Tn5 Transposome | 16 $\mu$ l            | 50 $\mu$ l            |

Package 3-2 组分如下 ( 4°C 保存 ) :

| 组分名称            | AG12566<br>( 4 rxns ) | AG12567<br>(12 rxns ) |
|-----------------|-----------------------|-----------------------|
| DNA Clean Beads | 950 $\mu$ l           | 2.9 ml                |
| Stop Buffer     | 80 $\mu$ l            | 240 $\mu$ l           |

Package 3-3 组分如下 ( -20°C 保存 ) :

| 组分名称                       | AG12566<br>( 4 rxns ) | AG12567<br>(12 rxns ) |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Lysis Buffer               | 200 $\mu$ l           | 600 $\mu$ l           |
| Wash Buffer I              | 1 ml X 2 pcs          | 1.5 ml X 4 pcs        |
| Wash Buffer II             | 1.6 ml                | 1.6 ml X 3 pcs        |
| Tn5 Reaction Buffer        | 200 $\mu$ l           | 600 $\mu$ l           |
| 1% Digitonin               | 4 $\mu$ l             | 12 $\mu$ l            |
| <i>AccuNext</i> PCR Mix II | 80 $\mu$ l            | 240 $\mu$ l           |
| Proteinase K (20 mg / ml ) | 4 $\mu$ l             | 12 $\mu$ l            |
| Nuclease free water        | 1 ml                  | 1 ml                  |

注意: *AccuNext* 转座体建库适配接头引物 (Illumina) (Code No. AG12532 / AG12533 / AG12534) 为实验必须试剂, 但本产品中未配置, 需要单独购买。*AccuNext* 转座体建库适配接头引物 (Illumina) 的信息见附录 1。

## ➤ 保存及运输

保存温度: Package 3-1 -80°C 保存

Package 3-2 4°C 保存 (避免冻结)

Package 3-3 -20°C 保存

运输温度: Package 3-1 干冰运输

Package 3-2 冰袋保存

Package 3-3 干冰运输或 -20°C 冰袋运输

## ➤ 实验原理及流程

先在 Lysis Buffer 作用下分离细胞核; 然后将 *AccuNext* Tn5 Transposome 与细胞核孵育, 利用 Tn5 转座体识别染色质开放区域, 转座时将转座体两端的 Adapter 1 和 Adapter 2 接头序列插入靶 DNA 的两端, 形成两端带有 Adapter 的 DNA 产物; 这种 DNA 产物经过 PCR 扩增、纯化和分选后即可获得测序文库, 经测序获得染色质开放区域的 DNA 信息。图 1 是原理过程, 图 2 是最终获得的文库结构。

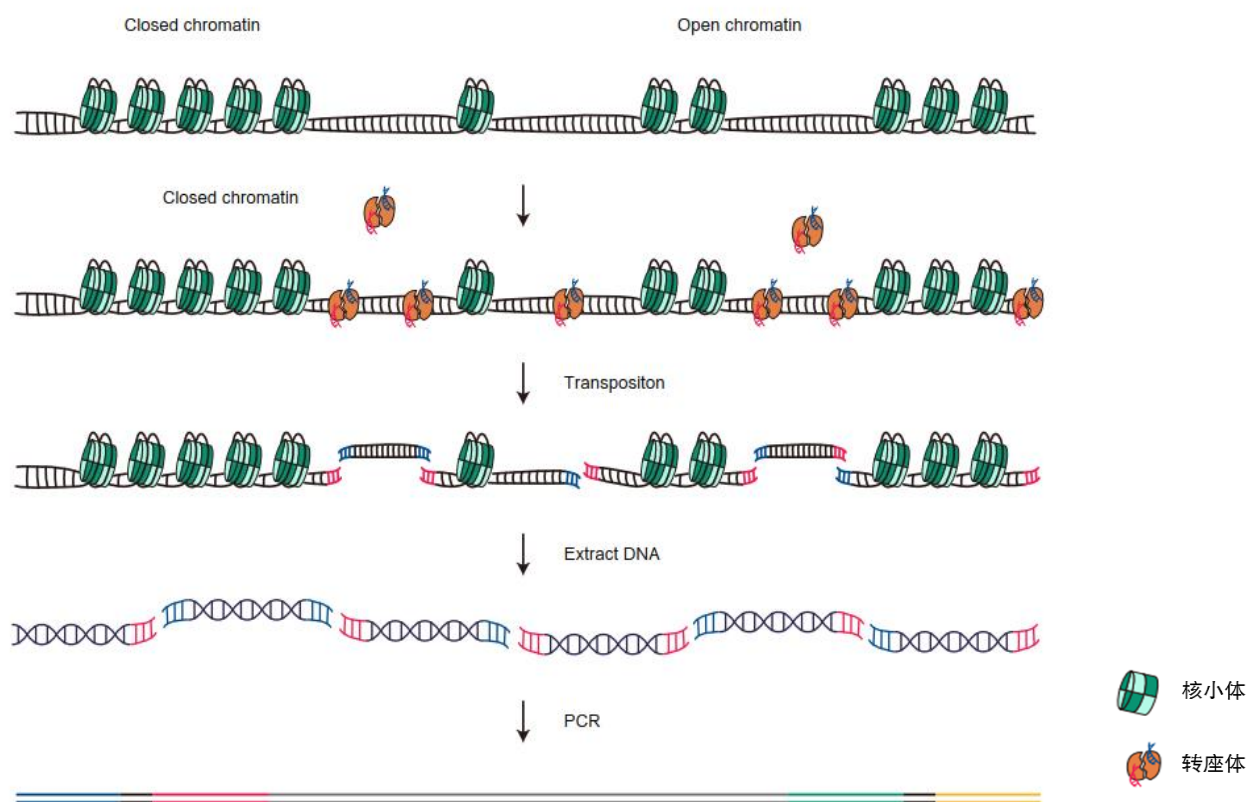


图 1: 文库构建原理

5' -AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC-i5 index-TCGTCGGCAGCGTCAG  
ATGTGTATAAGAGACAG-NNNNNN-CTGTCTCTTATACACATCTCCGAGCCCACGA  
GAC-i7 index-ATCTCGTATGCCGTCTTCTGCTTG-3'

注：-NNNNNN-：表示插入序列。



图 2：文库结构

## ➤ 产品优势

1. 适用于 illumina 测序平台：整合了 Index 和 illumina 接头，构建的 DNA 文库可直接进行 NGS 测序。
2. 高通量：ATAC-seq 能够在短时间内分析大量样本，适合大规模基因组研究。
3. 低细胞需求：与传统方法相比，ATAC-seq 对细胞数量的需求较低，可从低至 1000 个细胞进行建库。
4. 细胞投入量适用范围广：适用于  $10^3 \sim 10^5$  个细胞起始量的样本建库。
5. 高重复性：实验结果具有较高的重复性和一致性。
6. 信噪比高：TSS 富集良好且信噪比高。

## ➤ 使用注意事项

### 1. 防污染要求

- ❖ 实验过程中，要穿实验服、戴一次性的口罩和手套防止污染。
- ❖ 本产品中的试剂，应保存在无核酸酶和核酸污染的环境中，避免试剂被污染。
- ❖ 要避免与其他实验的交叉污染。建议将实验区分区：试剂配制区（建议设置无菌正向气流）、模板添加区、PCR 扩增区、产物纯化区和电泳检测区。
- ❖ 实验过程中要避免讲话，每次实验前后使用 70%酒精擦拭清洁实验台面。实验过程中小心轻柔地打开和关闭样品管盖，避免样品飞溅或喷洒。若样品飞溅至手套，建议更换手套；若喷洒至桌面，立即用水或 70%的酒精擦拭。
- ❖ 每次实验，建议设置阴性对照（不加细胞）实验，确认实验是否有污染。

### 2. 细胞要求

- ❖ 本产品适用于  $10^3 \sim 10^5$  个细胞起始量的样本建库，因不同类型细胞及不同阶段的细胞染色质开放情况存在差异，因此，如果细胞量不受限制，建议使用  $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$  个细胞进行实验，以获得较好的实验结果。
- ❖ 原则上，所有的细胞类型均适用本产品，但本产品配制的细胞裂解液（Lysis Buffer）适用于哺乳动物细胞核分离，如果是组织样本、植物或真菌细胞，建议先通过合适的方法获得原生质体或细胞核，再使用本产品进行后续实验。

- ❖ 实验前，需要确认细胞活力，死亡的细胞染色质松散，DNA 会大量的暴露出来，暴露的 DNA 更容易被转座体识别切割造成较强的噪音信号，建议细胞活性不低于 90%（细胞活性可以用台盼蓝染色来鉴定）。

### 3. 分离细胞核

- ❖ 分离细胞核时，需要注意避免细胞核丢失，离心时可对管壁做标记并统一方向离心，弃上清时沿着沉淀的反方向吸取，不要吸干液体。
- ❖ 处理细胞或细胞核时，吹打要轻柔，不要剧烈震荡，尽量不要起气泡，减少气泡破裂时损伤细胞核。
- ❖ 分离细胞核时，Wash Buffer II 的清洗是为了更好地降低线粒体 DNA 的污染，如果为了节省时间，可尝试减少 Wash Buffer II 的洗涤步骤。

### 4. PCR 扩增循环数选择

- ❖ 下表 1 是根据 GM12878 细胞摸索出的细胞量与文库扩增循环数关系表，不同细胞，建议实验前对循环数进行摸索，在满足文库产量的前提下，尽量选用少的循环数，确保得到高质量文库，避免过度扩增导致偏好性增加、重复性增加、嵌合体增加等不良效果。

表 1. PCR 循环数推荐表

| 起始细胞量  | 扩增循环数 (cycles) |
|--------|----------------|
| 100000 | 12~14          |
| 50000  | 12~14          |
| 10000  | 14~16          |
| 1000   | 18~20          |

### 5. 纯化及分选时磁珠的使用

- ❖ 磁珠使用前应先平衡至室温，否则会导致回收率下降、分选效果不佳。
- ❖ 磁珠使用前应当充分振荡混匀，DNA 样品加入磁珠后应保证与磁珠充分混匀。
- ❖ 吸取上清时，应避免吸到磁珠，以免影响文库质量。
- ❖ 80%乙醇应现用现配，避免乙醇浓度降低而影响回收。
- ❖ 磁珠室温干燥时，80%乙醇干燥不充分会影响后续反应，干燥过度又会导致磁珠开裂而降低产物回收率。

### 6. 文库质检

- ❖ 文库浓度检测：推荐使用 qPCR 绝对定量的方法，对文库精确定量，也可以使用其他基于荧光染料的方法，如 Qubit、PicoGreen 等，请勿使用任何基于吸光度检测的方法。
- ❖ 文库大小检测：推荐使用 Agilent 2100 Bioanalyzer 进行文库长度分布检测。

## ➤ 实验前准备

### 1. 试剂 & 耗材:

- ❖ illumina 测序接头引物: *AccuNext* 转座体建库适配接头引物 (Illumina) (Code No. AG12532 / AG12533 / AG12534) 或其他等效产品。
- ❖ DNA 评价: *AcuQ* 1X dsDNA (高灵敏度) 定量试剂盒 (AG12549 / AG12550) 及 Agilent DNA 1000 Kit (Agilent, Code No. 5067-1054) 或其他等效产品。
- ❖ 其他材料: 80%乙醇, 0.2 ml RNase-free PCR 管, 1.5 ml 离心管等。

### 2. 仪器:

- ❖ 离心机、光学显微镜、PCR 仪、Qubit 荧光计、Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer、移液器、涡旋振荡仪、小型桌面离心机。

## ➤ 操作方法

- ✚ 本产品适用于  $10^3 \sim 10^5$  起始量的细胞, 但由于不同的细胞类型及不同阶段的细胞染色质开放情况存在差异, 因此, 在细胞量充足的情况下, 推荐使用  $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$  个细胞进行实验。
- ✚ 提前将 Lysis Buffer、1% Digitonin、Wash Buffer I、Wash Buffer II、Tn5 Reaction Buffer 室温解冻, 混匀后短暂离心。Stop Buffer 室温放置, 观察有无沉淀, 如有沉淀可室温或 37°C 加热溶化, 混匀后使用。
- ✚ 将离心机提前预冷到 4°C。

### A. Cell Lysis Buffer 配制

按照下表配制 Cell Lysis Buffer<sup>a</sup>, 配好后用移液器吹打混匀, 放置在冰上备用。

| 组分           | 反应体系         |
|--------------|--------------|
| Lysis Buffer | 49.5 $\mu$ l |
| 1% Digitonin | 0.5 $\mu$ l  |
| Total        | 50 $\mu$ l   |

<sup>a</sup>: 含有 Digitonin 的 Cell Lysis Buffer 不可长期保存, 建议现配现用。

### B. 细胞核提取

1. 在室温下收集细胞, 使用对应的培养基清洗细胞一次, 进行细胞计数。
2. 取实验所需数量的细胞于 1.5 ml 离心管中, 2300 rpm (500 x g) 4°C 离心 5 min, 弃上清。(注意: 细胞量较少时, 可能看不到细胞沉淀, 为避免弃上清时吸到沉淀, 离心前可以在离心管底部做标记, 吸上清时, 沿着管壁, 在沉淀的反方向吸取, 并保留少量液体。)
3. 加入 50  $\mu$ l Cell Lysis Buffer, 轻轻吹打混匀, 冰上放置 5 min。
4. 加入 500  $\mu$ l Wash Buffer I, 轻轻吹打混匀, 冰上放置 5 min。

5. 2300 rpm ( 500 x g ) 4°C离心 5 min, 弃上清 ( 可先用 1 ml 的移液器去除 450  $\mu$ l 上清, 然后使用 100  $\mu$ l 移液器去除 95  $\mu$ l 上清, 保留不超过 5  $\mu$ l 的液体 )。
6. 加入 200  $\mu$ l Wash Buffer II, 轻轻吹打混匀, 冰上放置 2 min。 ( 注: 为了节省时间, 此步可选择性操作, 但再次洗涤细胞核有利于降低线粒体 DNA 占比, 并且, 如果线粒体 DNA 占比较高, 可以增加 Wash Buffer II 的洗涤次数。 )
7. 2300 rpm ( 500 x g ) 4°C 离心 5 min ( 在此时可按照步骤 [<C.转座体片段化>](#) 配制 Transposome mix )。
8. 弃上清 ( 保留不超过 5  $\mu$ l 的液体 ), 直接进行后续的转座反应。  
( 注意: 处理好的细胞核应及时加入 [<C.转座体片段化>](#) 步骤中配制的 Transposome mix, 避免细胞核长时间暴露于空气中而损伤, 造成后续建库出现高背景噪音。 )

### C. 转座体片段化

✚ 将所需用的试剂在冰上解冻。融化后, 短暂离心, 混匀后放置在冰上备用。其中 *AccuNext* Tn5 Transposome 用移液器轻柔吹打混匀, 请勿涡旋。其余试剂可轻柔涡旋混匀。

1. 按照下表, 配制 Transposome mix, 轻柔混匀后放置于冰上备用。

| 组分                              | 反应体系         |
|---------------------------------|--------------|
| Tn5 Reaction Buffer             | 45.5 $\mu$ l |
| <i>AccuNext</i> Tn5 Transposome | 4 $\mu$ l    |
| 1% Digitonin                    | 0.5 $\mu$ l  |
| Total                           | 50 $\mu$ l   |

2. 加入 50  $\mu$ l Transposome mix 到步骤 [<B.细胞核提取>](#) 处理好的细胞核中, 使用移液器轻柔吹打混匀 10 次, 然后将反应液转移至 PCR 管中, 立即放入 PCR 仪中进行片段化反应。

( 注意: 吹打时要轻柔缓慢, 不要产生气泡, 避免对细胞核造成损失。转移至 PCR 管后, 不要离心, 避免细胞核聚集, 使片段化不充分。 )

3. 将上述 PCR 管置于 PCR 仪中进行片段化反应, 反应程序如下:

| 温度   | 时间     |
|------|--------|
| 37°C | 30 min |
| 4°C  | Hold   |

4. 按照下表配制 Stop Reaction Buffer, 轻柔混匀后放置于冰上备用。

| 组分                         | 反应体系       |
|----------------------------|------------|
| Stop Buffer                | 19 $\mu$ l |
| Proteinase K (20 mg / ml ) | 1 $\mu$ l  |

- 将反应结束后的 PCR 管短暂离心，立即加入 20  $\mu$ l 的 Stop Reaction Buffer，用移液器吹打 10 次混匀，室温静置 10 min。立即进行 **< D. DNA 纯化 >** 步骤。

## D. DNA 纯化

### 实验前准备：

- 每次实验前，可根据实验量，配制新鲜的 80%乙醇溶液，每个样品需要 400  $\mu$ l。
- 实验前，将磁珠恢复至室温（15 ~ 25 $^{\circ}$ C）（放置约 30 min），使用前将磁珠充分涡旋振荡混匀约 5 min。

### 实验步骤

- 添加 126  $\mu$ l DNA Clean Beads 至上述 70  $\mu$ l 片段化产物中（磁珠：样品的比例为 1.8 : 1），涡旋混匀 5 ~ 10 sec 或使用移液器轻柔吸打混匀 10 次，充分混匀后，短暂离心，室温静置孵育 5 min。
- 将 PCR 管置于磁力架上分离磁珠和液体，待溶液澄清后（约 2~5 min），小心移除上清（勿吸到磁珠）。
- 保持 PCR 管始终处于磁力架上，加入 200  $\mu$ l 80%乙醇漂，室温孵育 30 sec，小心移除上清。
- 重复步骤 3）一次。
- 保持 PCR 管始终置于磁力架上，开盖干燥磁珠 3 ~ 5 min 至无乙醇残留。  
 无乙醇残留时，磁珠表面无光泽；如果乙醇未干燥完全，可能会影响 DNA 的洗脱效率及影响下游实验。但注意不要过分干燥磁珠，避免磁珠表面开裂，降低 DNA 洗脱效率。
- 磁珠晾干后，将 PCR 管从磁力架上取下，加入 22  $\mu$ l Nuclease free water 覆盖磁珠，使用移液器吹打混匀磁珠，室温孵育 5 min（如果磁珠干燥开裂，适当延长孵育时间）。
- 将 PCR 管短暂离心，置于磁力架上，分离磁珠和液体直到溶液澄清（2~5 min）。
- 小心吸取 20  $\mu$ l 上清转移到新的 PCR 管中（勿吸到磁珠），可直接进行后续的文库扩增，或-20 $^{\circ}$ C保存（建议尽快进行文库扩增，避免长期保存导致 DNA 降解）。

## E. 文库扩增

- 按照下表配制 PCR 扩增体系，轻柔混匀，短暂离心。

| 组分                            | 反应体系             |                 |
|-------------------------------|------------------|-----------------|
| 上述纯化产物                        | 20 $\mu$ l       |                 |
| N5 index Primer <sup>*a</sup> | 1.5 $\mu$ l      | } <sup>*b</sup> |
| N7 index Primer <sup>*a</sup> | 1.5 $\mu$ l      |                 |
| AccuNext PCR Mix II           | 20 $\mu$ l       |                 |
| Nuclease free water           | Up to 50 $\mu$ l |                 |

\*a: N5 / N7 index Primer 可使用 *AccuNext* 转座体建库适配接头引物 ( Illumina ) ( Code No. AG12532 / AG12533 / AG12534 ) 。

\*b: 可在冰上将这 4 个组分配制成预混液, 用移液器轻柔吸打混匀, 待片段化结束, 取 30  $\mu$ l 预混液加入至上述片段化反应液中, 再次轻柔吸打混匀并短暂离心。

2. 将 PCR 管置于 PCR 仪中, 立即运行以下反应程序 ( 提前设置反应程序 ) 。

| 温度                | 时间     | 循环数              |
|-------------------|--------|------------------|
| 72°C <sup>a</sup> | 3 min  | 1                |
| 98°C              | 30 sec | 1                |
| 98°C              | 15 sec | } X <sup>b</sup> |
| 63°C              | 10 sec |                  |
| 72°C              | 2 min  | 1                |
| 4°C               | Hold   | 1                |

\*a: 此步不可省略, 片段化产物并非完整的双链 DNA, 72°C 孵育 3 min 用于补齐双链 DNA。

\*b: 下表为推荐的文库扩增循环数, 实验前建议对循环数进行摸索, 在满足文库产量的前提下, 尽量选用少的循环数, 确保得到高质量文库。

| 起始细胞量  | 扩增循环数 (cycles) |
|--------|----------------|
| 100000 | 12~14          |
| 50000  | 12~14          |
| 10000  | 14~16          |
| 1000   | 18~20          |

## F. 文库分选

由于起始细胞量以及不同种类细胞的染色质开放状态差异, 文库大小可能存在不同的分布模式。通过磁珠分选, 可以有效去除文库中的大片段, 使得文库片段分布在 200~700 bp 左右。

### 实验前准备:

- 每次实验前, 可根据实验量, 配制新鲜的 80%乙醇溶液, 每个样品需要 400  $\mu$ l。
- 实验前, 将磁珠恢复至室温 ( 15 ~ 25°C ) ( 放置约 30 min ), 使用前将磁珠充分涡旋振荡混匀约 5 min。

### 实验步骤:

- 添加 27.5  $\mu$ l 平衡至室温的 DNA Clean Beads 至 50  $\mu$ l PCR 产物中 ( 磁珠 : DNA=0.55 : 1 ), 涡旋混匀或移液器吹打混匀 10 次, 室温静置孵育 5 min。
- 短暂离心, 将 PCR 管置于磁力架上静置 5 min, 待溶液澄清后, 小心转移上清至新的 PCR 管中 ( 可留 2.5  $\mu$ l, 避免吸到磁珠 ) 。

3. 向上清液中加入 90  $\mu$ l DNA Clean Beads (磁珠 : DNA=1.8 : 1) 加入到上述 PCR 产物中, 涡旋混匀或移液器轻轻吹打混匀, 室温孵育 5 min。
4. 将 PCR 管短暂离心并置于磁力架上分离磁珠和液体, 待溶液澄清后 (约 5 min), 小心移除上清 (勿吸到磁珠)。
5. 保持 PCR 管始终处于磁力架中, 加入 200  $\mu$ l 80%乙醇漂洗磁珠, 室温孵育 30 sec 后小心移除上清。
6. 重复步骤 5 一次。
7. 保持 PCR 管始终置于磁力架上, 开盖干燥磁珠 3 ~ 5 min 至无乙醇残留。  
✚ 无乙醇残留时, 磁珠表面无光泽; 如果乙醇未干燥完全, 可能会影响 DNA 的洗脱效率及影响下游实验。但注意不要过分干燥磁珠, 避免磁珠表面开裂, 降低 DNA 洗脱效率。
8. 将 PCR 管从磁力架中取出, 加 21  $\mu$ l Nuclease free water 洗脱。涡旋混匀或移液器轻轻吹打充分混匀, 室温静置孵育 5 min。
9. 将 PCR 管短暂离心, 置于磁力架上, 分离磁珠和液体直到溶液澄清 (约 2~5 min)。
10. 小心转移 20  $\mu$ l 上清至低吸附 tube 管中 (勿吸到磁珠),  $-20^{\circ}\text{C}$  保存。

## G. 文库质量检测

1. 取 2  $\mu$ l 纯化后的文库, 使用 Qubit 荧光计和 *AcuQ* 1X dsDNA (高灵敏度) 定量试剂盒 (Code No. AG12549 / AG12550) 检测文库浓度。具体操作请参照说明书。
2. 取 1  $\mu$ l 纯化后的文库, 使用 Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer 和 Agilent DNA 1000 Kit (Agilent, Code No. 5067-1054) 检测文库的分布范围。具体操作请参照说明书。
3. 成功的 ATAC 文库会呈现典型的 ladder 状条带 (核小体分布), 文库浓度会在 10 ~ 50 ng /  $\mu$ l, 如下图 3 所示。产物可直接用于 illumina 平台测序。

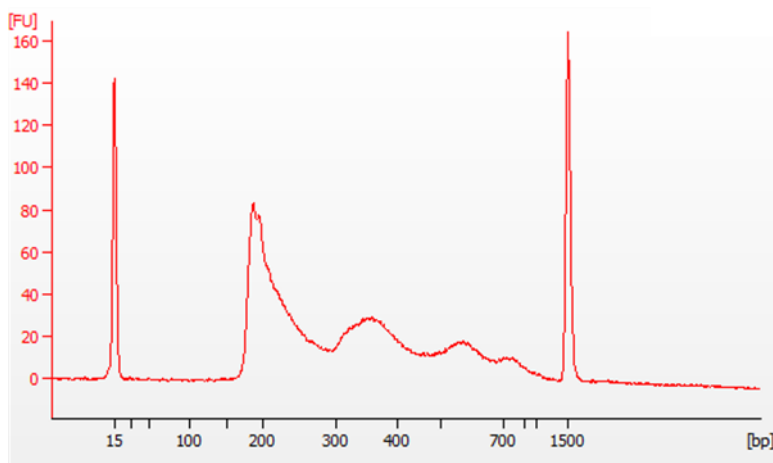
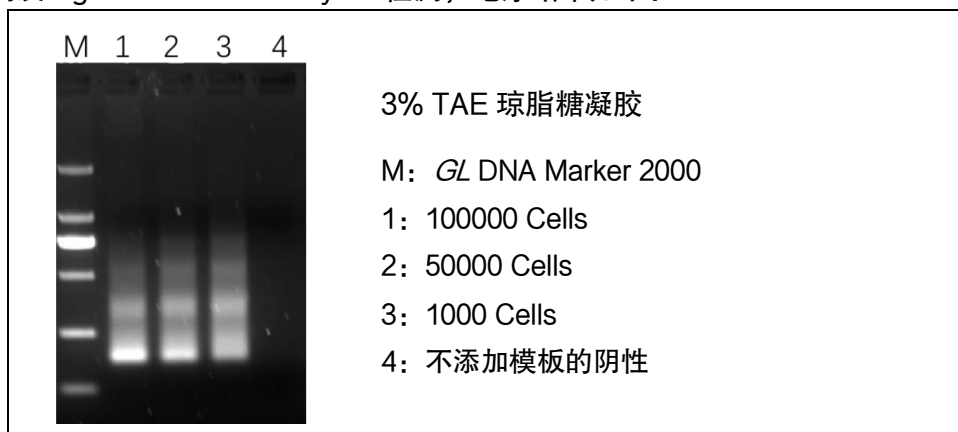


图 3. Agilent 2100 Bioanalyzer 文库长度检测

## ➤ 实验例

1. 使用本产品对 GM12878 Cells 进行文库构建，细胞数量为 100000（循环数 13）、50000（循环数 13）、1000（循环数 19）。对文库进行琼脂糖凝胶电泳检测及 Agilent 2100 Bioanalyzer 检测，电泳结果如下：



Agilent 2100 Bioanalyzer 检测结果如下：

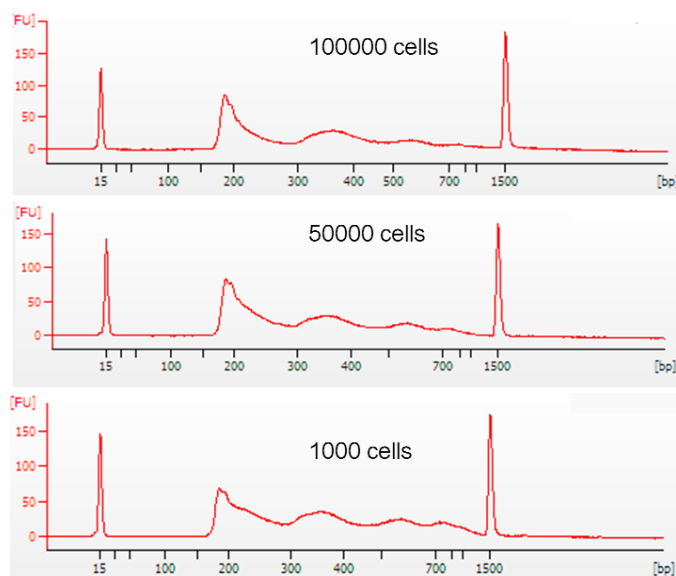


图 4. 不同细胞量 Agilent 2100 Bioanalyzer 文库长度检测

上图是 100000 Cells、50000 Cells、1000 Cells 的文库分布图，可看到呈现明显的核小体分布，第一个峰分布在 170~200 bp 左右，为核小体 Free 模型；后面出现的第二个峰为一个核小体模型；第三个峰为两个核小体模型。

## ➤ 附录 1: *AccuNext* 转座体建库适配接头引物 (Illumina) 的信息

### N5 index Primer

5' -AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC [i5 Index] TCGTCGGCAGCGTC- 3'

### N7 index Primer

5' -CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT [i7 Index] GTCTCGTGGGCTCGG- 3'

[i5 Index] 表示 8 bp 的 i5 Index 序列, [i7 Index] 表示 8 bp 的 i7 Index 序列。

具体序列见下表:

| 组分               |      | 引物 Index 序列 | Sample Sheet 输入 / 测序时 Index 序列                       |                                                                 |
|------------------|------|-------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
|                  |      |             | NovaSeq 6000 v1.0 reagents, MiSeq, HiSeq 2000 / 2500 | NovaSeq 6000 v1.5 reagents, MiniSeq, NextSeq, HiSeq 3000 / 4000 |
| N5 index Primers | N501 | TAGATCGC    | TAGATCGC                                             | GCGATCTA                                                        |
|                  | N502 | CTCTCTAT    | CTCTCTAT                                             | ATAGAGAG                                                        |
|                  | N503 | TATCCTCT    | TATCCTCT                                             | AGAGGATA                                                        |
|                  | N504 | AGAGTAGA    | AGAGTAGA                                             | TCTACTCT                                                        |
|                  | N505 | GTAAGGAG    | GTAAGGAG                                             | CTCCTTAC                                                        |
|                  | N506 | ACTGCATA    | ACTGCATA                                             | TATGCAGT                                                        |
|                  | N507 | AAGGAGTA    | AAGGAGTA                                             | TACTCCTT                                                        |
|                  | N508 | CTAAGCCT    | CTAAGCCT                                             | AGGCTTAG                                                        |
| N7 index Primers | N701 | TAAGGCGA    | TCGCCTTA                                             |                                                                 |
|                  | N702 | CGTACTAG    | CTAGTACG                                             |                                                                 |
|                  | N703 | AGGCAGAA    | TTCTGCCT                                             |                                                                 |
|                  | N704 | TCCTGAGC    | GCTCAGGA                                             |                                                                 |
|                  | N705 | GGACTCCT    | AGGAGTCC                                             |                                                                 |
|                  | N706 | TAGGCATG    | CATGCCTA                                             |                                                                 |
|                  | N707 | CTCTCTAC    | GTAGAGAG                                             |                                                                 |
|                  | N708 | CAGAGAGG    | CCTCTCTG                                             |                                                                 |
|                  | N709 | GCTACGCT    | AGCGTAGC                                             |                                                                 |
|                  | N710 | CGAGGCTG    | CAGCCTCG                                             |                                                                 |
|                  | N711 | AAGAGGCA    | TGCCTCTT                                             |                                                                 |
|                  | N712 | GTAGAGGA    | TCCTCTAC                                             |                                                                 |