

EasyPrep ATAC-seq Assay Kit for Illumina

Cat: QY101

● 产品介绍:

EasyPrep ATAC-seq Assay Kit for Illumina 是针对 Illumina 测序平台开发的染色质开放区域检测试剂盒。试剂盒简化实验操作、缩短整体实验周期,有效减少非特异性片段带来的背景噪音,提升文库与测序数据质量,支持多种生物样本,适用于染色质可及性、基因表达调控等方向的科学研究。

● 实验准备

实验人员应备齐如下试剂和设备:

无水乙醇、1x PBS、低温离心机、PCR 仪、磁力架、PCR 管、枪头

● 试剂盒试剂如下:

Box1		QY101-1 (12rxns)	QY101-2 (24rxns)
DNA Clean beads		1.25mL x2	5mL
Stop Buffer		60μL	120μL

Box1 试剂, 4°C保存, 4°C运输。

Box2		QY102-1 (12rxns)	QY102-2 (24rxns)
RS Buffer		600μL	1.2mL
Wash buffer		1.2mL x2	4.8mL
1% Digitonin		12μL	24μL
TD Buffer		600μL	1.2mL
Tn5 Transposome		12μL	24μL
2x PCR Mix		300μL	600μL

Box2 试剂, -20°C保存, <-20°C运输。

● 适用范围

本产品仅供科学研究使用, 不得用于临床医学诊断及其他非合理用途

● 实验步骤

A. 配置 buffer

1) 加入如下试剂配置 Lysis buffer，并放置在冰上备用：

	RS Buffer	50μL
	1% Digitonin	0.5μL
Total		50.5μL

注意：若有 N 个样品，可按照 1x N 个样品数量配置 Lysis buffer

2) 加入如下试剂配置 Transposome Mix，并放置在冰上备用：

	TD buffer	50μL
	1% Digitonin	0.5μL
	Tn5 Transposome	1μL
Total		51.5μL

注意：若有 N 个样品，可按照 1x N 个样品数量配置 Transposition Mix

B. 细胞裂解

- 1) 收集约 50,000 个细胞，4℃ 500g 离心 5min，小心去掉上清；
- 2) 加入 500μL 1x PBS 重悬细胞，4℃ 500g 离心 5min，小心去掉上清；
- 3) 加入 50μL Lysis buffer，轻轻吹打 5 次，冰上孵育 5min；
- 4) 加入 200μL Wash buffer，轻轻吹打 5 次；
- 5) 4℃ 500g 离心 10min，小心去掉上清。

C. DNA 片段化

- 1) 加入 50μL Transposome Mix，轻轻吹打 5-6 次，混合均匀，并小心将样品转移到 PCR 管中；
- 2) 按照如下程序在 PCR 仪中进行 DNA 片段化，**将热盖温度设置成 50℃**：

Temperature	Time
-------------	------

37°C

30min

4°C

Hold

3) 加入 5μL Stop Buffer, 轻轻吹打 10 次, 混匀后室温静置 5min。

D. DNA 回收

注意: DNA Clean Beads 应至少提前半小时放置在室温进行平衡, 80%乙醇需现配现用

- 1) 加入 130μL DNA Clean Beads (~2.2x), 上下吹打均匀, 室温孵育 5min;
- 2) 将 PCR 管放置到磁力架上, 约 3min 溶液澄清后, 将上清弃去;
- 3) 加入 200μL 80%乙醇溶液, 室温放置 30s, 然后移去乙醇溶液;
- 4) 重复 3) 一次, 最后一次用 10μL 枪头小心移除剩余所有 80%乙醇溶液;
- 5) 室温下干燥磁珠约 5min, 当磁珠变成磨砂色时干燥已经完成, 不要过度干燥;
- 6) 将 PCR 管从磁力架上取下, 加入 21μL ddH₂O, 吹打均匀, 室温孵育 3min;
- 7) 将 PCR 管放到磁力架上, 直至溶液变澄清, 取 20μL 溶液放到新的 PCR 管中。

E. 文库扩增

- 1) 加入以下试剂混合均匀:

	纯化DNA	20μL
	2x PCR Mix	25μL
	N5xx Primer	2.5μL
	N7xx Primer	2.5μL
	Total	50μL

注: 实验人员可选择本公司产品 EasyPrep Index for Illumina (QY201) 里的 N5xx 和 N7xx Primer 进行实验, 也可以根据实验设计自主选择引物。

- 2) 按以下程序扩增:

温度	时间	PCR 循环数
72°C	5min	
98°C	30s	

98°C	10s	
60°C	10s	10-21
72°C	1min	1
4°C	∞	

3) 可按如下方案选择 PCR 循环数:

细胞数	PCR 循环数
100	19-21
1000	16-18
10,000	13-15
100,000	10-12

F. 文库纯化

注意: DNA Clean Beads 应至少提前半小时放置在室温进行平衡, 80%乙醇需现配现用

- 1) 用 DNA Clean Beads 对扩增文库进行两步法进行片段分选, 分选方法是 0.55x/1.0x;
- 2) PCR 扩增产物中加入 27.5μL DNA Clean Beads, 上下吹打均匀, 室温孵育 5min;
- 3) 将 PCR 管放置到磁力架上, 约 3min 溶液澄清后, 将上清转移到新的 PCR 管中;
- 4) 上清中加入 50μL DNA Clean Beads, 上下吹打均匀, 室温孵育 5min;
- 5) 将 PCR 管放置到磁力架上, 约 3min 溶液澄清后, 弃上清;
- 6) 加入 200μL 80%乙醇溶液, 室温放置 30s, 然后移去乙醇溶液;
- 7) 重复 6) 一次, 最后一次用 10μL 枪头小心移除剩余所有 80%乙醇溶液;
- 8) 室温下干燥磁珠约 5min, 当磁珠变成磨砂色时干燥已经完成, 不要过度干燥;
- 9) 将 PCR 管从磁力架上取下, 加入 21μL ddH₂O, 吹打均匀, 室温孵育 3min;
- 10) 将 PCR 管放到磁力架上, 直至溶液变澄清, 取 20μL 溶液放到新的 ER 管中。