

# **QKGEN<sup>®</sup> Unique Dual Index Barcodes A**

**(For Illumina)**

**双端标签特异性接头 A**

**使用说明书 (V1.0)**

## QKGEN® Unique Dual Index Barcodes A (For Illumina)

本试剂盒是针对 Illumina 二代测序平台设计的独特双端标签(Unique Dual Index, UDI)接头试剂盒,为文库构建提供的专用配套试剂盒,试剂盒包含 Illumina 平台通用的文库扩增引物 Primer Mix 以及 96 种两端含有独特标签序列的 UDI 接头,每个 UDI 接头都包含 flow cell 结合位点、测序引物结合位点和 index 序列,支持低水平 (>2 重)至高水平 (96 重)的多重混样测序,兼容 Illumina®双端和单端测序。本试剂盒试剂经过严格的质量把控和功能验证,以及测序验证纯度和准确性,能够有效降低样品标签跳跃的现象。

产品组分:

组分名称	规格
QKGEN® Unique Dual Index Barcodes 1-96 (25µM)	5 µL × 96
QKGEN® Primer Mix (12.5µM)	384 µL

保存方法: -20°C

注意事项:

1. 本试剂盒共提供 96 种 UDI 双端接头,可进行 96 个样本的混合测序。
2. 本试剂盒提供的 UDI 接头为已退火的双链接头,并已分装到 96 孔板中,使用前请将各组分置于冰上解冻,解冻后用离心机至少离心 1min,保证所有的液体均甩到管底,避免损失,然后置于冰上待用,切勿将试剂长时间置于高温 (>25°C) 环境,应避免反复冻融。
3. 取用 UDI 接头时,用移液枪头戳孔,用移液器轻柔吹打混匀再吸出,避免涡旋震荡混匀,也不要将整个封板膜撕下,避免交叉污染。
4. 使用本试剂盒的 UDI 接头时,应搭配本试剂盒的扩增引物 QKGEN® Primer Mix 使用,切勿与其他试剂盒混用。

**使用方法:**

本试剂盒提供的 UDI 接头用于文库构建时的接头连接步骤,Primer Mix 用于文库构建时的文库扩增步骤,具体的使用方法可参考相应的文库构建试剂盒。

## 接头连接 (Adapter Ligation) :

根据下表计算 UDI 接头的用量, 并根据 Input DNA 量用 Nuclease-free Water 进行相应倍数的稀释:

不同 DNA 投入量的 UDI 接头用量

Input DNA 量	接头浓度	稀释倍数	加入体积 ( $\mu\text{L}$ /反应)
1000ng	25 $\mu\text{M}$	0	2.5
500ng	25 $\mu\text{M}$	0	2.5
250ng	25 $\mu\text{M}$	0	2.5
10-100ng	3 $\mu\text{M}$	8.3	2.5

## 文库扩增 (Library Amplification) :

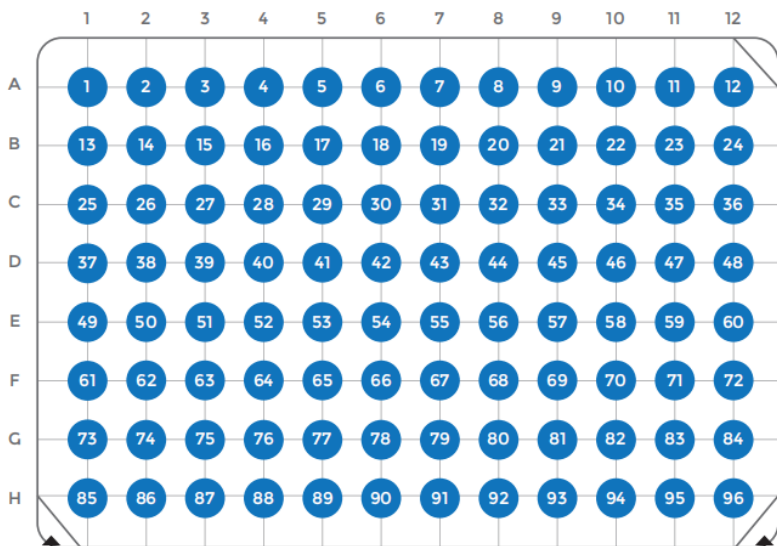
配制文库扩增体系时, Primer Mix 加入量为 2 $\mu\text{L}$ /反应。

### 文库构建流程:



## 附 录

### 一、QKGEN<sup>®</sup> Unique Dual Index Barcodes 试剂盒 96 孔板对应孔位关系



1. 96 种 Unique Dual Index Barcode, 5 $\mu$ L/孔, 2 反应/孔。

2. 96 孔板: Axygen P-96-450V-C; 500  $\mu$ L 96 well "V" Bottom, Clear; 封板膜: 4titude® Pierce Seal4ti。

3. 第 1、2 列连续的一对接头为一组完全碱基平衡接头, 共 8 组。进行两个样本低水平混样建库时, 必须使用一组完全碱基平衡的接头; 当进行多样本 (>2) 混样建库时, 则至少要包含一组完全碱基平衡的接头。

## 二、通用扩增引物 Primer Mix 序列信息:

名称	序列 (5'-3')
PCR Primer 1	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC
PCR Primer 2	CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT

## 三、Unique Dual Index Barcode 序列信息:

名称	序列 (5'-3')
P5 端	AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC[XXXXXXXXXX]ACACTCT TTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCT
P7 端	GATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGTCAC[XXXXXXXXXX]ATC TCGTATGCCGTCTTCTGCTTG

注: [XXXXXXXXXX]代表 8bp 的 illumina 平台样本标签 index 序列

#### 四、Index 序列信息

注意: 当使用 Illumina® MiniSeq®, NextSeq®, HiSeq® 3000 或 HiSeq® 4000 平台测序时, P5 Index 输入其反向互补序列; 当使用 Illumina 其他平台测序时, 则输入 P5 Index 的正向序列。

编号	P5 Index	P5 Index 反向互补	P7 Index
UDI 1	AATAACGT	ACGTTATT	AATCGTTA
UDI 2	TTCTTGAA	TTCAAGAA	GTCTACAT
UDI 3	GGCAGATC	GATCTGCC	CGCTGCTC
UDI 4	CTATGTTA	TAACATAG	GATCAACA
UDI 5	GTTGACGC	GCGTCAAC	CGAAGGAC
UDI 6	ATCTACGA	TCGTAGAT	GATGCCGG
UDI 7	CTCGACAG	CTGTTCGAG	CTACGAAG
UDI 8	GAGGCTGC	GCAGCCTC	GATGCGTC
UDI 9	CCTCGTAG	CTACGAGG	CTACGGCA
UDI 10	CATAGGCA	TGCCTATG	GATTCCTT
UDI 11	AGATGAAC	GTTCACTT	CTACTCGA
UDI 12	CCGAGTAT	ATACTCGG	GATTCGAG
UDI 13	AATATTGA	TCAATATT	AATCGGCG
UDI 14	GTATACCG	CGGTATAC	TTCGCCGA
UDI 15	GATCCAAC	GTTGGATC	CTGGCCTC
UDI 16	AGATACGC	GCGTATCT	GAACTTAT
UDI 17	GGTATCTT	AAGATACC	CGTATTGG
UDI 18	CCTCTGGC	GCCAGAGG	GAAGCACA
UDI 19	CCATTGTG	CACAATGG	CTTAATAC
UDI 20	ACTACGGT	ACCGTAGT	GAAGTCTT

UDI 21	AAGTGCTA	TAGCACTT	GAAGAGGC
UDI 22	GCCGAACG	CGTTCGGC	CGGATAAC
UDI 23	TGTCCACG	CGTGGACA	GAATCTGG
UDI 24	GACACACT	AGTGTGTC	CTGATTGA
UDI 25	AATATGCT	AGCATATT	AATCCGTT
UDI 26	TTCTCATA	TATGAGAA	TGCGTACA
UDI 27	TCTGTGAT	ATCACAGA	GAATCAAT
UDI 28	CCGAACCTT	AAGTTCGG	TGAGTCAG
UDI 29	GTC'AACA	TGTTAGAC	GAATGCTC
UDI 30	GACGCCAT	ATGGCGTC	GAATATCC
UDI 31	GCCAATGT	ACATTGGC	CTTATGAA
UDI 32	CCAACGTC	GACGTTGG	TCGGCACC
UDI 33	GTAGATAA	TTATCTAC	AAGAAGCG
UDI 34	CTTACGGC	GCCGTAAG	CTCACGAT
UDI 35	CCAAGTGC	GCACTTGG	TCGGTCGA
UDI 36	CTAACTCA	TGAGTTAG	TCGGTAAG
UDI 37	AATATCTG	CAGATATT	AAGATACA
UDI 38	TTATATCA	TGATATAA	GTCGCTGT
UDI 39	CTGCGGAT	ATCCGCAG	TCGGATGT
UDI 40	GCGGCTTG	CAAGCCGC	CGAGCCGG
UDI 41	GAGTTGAT	ATCAACTC	CGATTATC
UDI 42	GCACTGAG	CTCAGTGC	TCGAAGCT
UDI 43	GACCACCT	AGGTGGTC	CTATCATT
UDI 44	TGGCTAGG	CCTAGCCA	CGCGCCAA
UDI 45	CCTACCGG	CCGGTAGG	CGAACGGA
UDI 46	GGAGGATG	CATCCTCC	CTACTGAC
UDI 47	CGCTGAAT	ATTCAGCG	TCTTAAGT
UDI 48	TGTGACGA	TCGTCACA	TTAGAGTC
UDI 49	AATAGATT	AATCTATT	AAGACGAA
UDI 50	TTAGCGCA	TGCGCTAA	TTATTATG

UDI 51	GCGGCCGT	ACGGCCGC	CGCTATTA
UDI 52	CAGTAACC	GGTACTG	TCTATCAG
UDI 53	GCCTAGTA	TACTAGGC	CGGTGGTA
UDI 54	CACGGCGC	GCGCCGTG	TCACCAAT
UDI 55	GGTGCAGA	TCTGCACC	CTGGAAGC
UDI 56	GTAAC TGC	GCAGTTAC	TCCTCGAT
UDI 57	CAGCCAGT	ACTGGCTG	AAGAGAGC
UDI 58	CGTCAACC	GGTTGACG	TCAACGAG
UDI 59	GCCGCGCA	TCGCCGGC	TGCGAGAC
UDI 60	GCCTCCGG	CCGGAGGC	CCTGGTGT
UDI 61	AATAGTCC	GGACTATT	AAGTAAGT
UDI 62	TTAGACGT	ACGTCTAA	TGACTGAA
UDI 63	GTGGACTA	TAGTCCAC	AAGACTGT
UDI 64	CACGGACG	CGTCCGTG	CAATGATG
UDI 65	CACTAGAG	CTCTAGTG	CACAGTAA
UDI 66	GCAGATGG	CCATCTGC	TGGTCATT
UDI 67	CTCTCACG	CGTGAGAG	CAACCGTG
UDI 68	GGAATCAC	GTGATTCC	TGGTGCAC
UDI 69	CGTTGACG	CGTCAACG	CCACAATG
UDI 70	CATCAGGT	ACCTGATG	TGTGTGCC
UDI 71	CGTTGTAA	TTACAACG	CACCACGG
UDI 72	GGCACGGT	ACCGTGCC	TGTGT TAA
UDI 73	AATAGCAA	TTGCTATT	AAGTTATC
UDI 74	TGATCGGT	ACCGATCA	GTACAGCT
UDI 75	AGTAGTAT	ATACTACT	CAACTGCT
UDI 76	GTTAGAGG	CCTCTAAC	CATGATGA
UDI 77	CCTTACAG	CTGTAAGG	TGACTACT
UDI 78	GTACATTG	CAATGTAC	CAGAAGAT
UDI 79	GGAGACCA	TGGTCTCC	TGAGGCGC
UDI 80	CGAACACC	GGTGTTCCG	CAGGTTCC

---

UDI 81	GAGAACAA	TTGTTCTC	TGAACAGG
UDI 82	TGTGAATC	GATTCACA	CAGTGTGG
UDI 83	GGTTAAGG	CCTTAACC	TTCCACCA
UDI 84	AGACCGCA	TGCGGTCT	CCGCTGTT
UDI 85	AATACAGG	CCTGTATT	AAGTTGGA
UDI 86	TGATGGCC	GGCCATCA	GGACAACG
UDI 87	TGTCACCT	AGGTGACA	TTCGAACC
UDI 88	GCTTCGGC	GCCGAAGC	CAGACCAC
UDI 89	CCAGTGGT	ACCACTGG	TTCTGGTG
UDI 90	GCACACGC	GCGTGTGC	CAATCGAA
UDI 91	GTCACGTC	GACGTGAC	AAGTACAG
UDI 92	GCAGCTCC	GGAGCTGC	CCGTGCCA
UDI 93	CATGCAGC	GCTGCATG	CATTGCAC
UDI 94	ACGATTGC	GCAATCGT	TTACCTGG
UDI 95	GACATTCG	CGAATGTC	CTGCAACG
UDI 96	GCGAATAC	GTATTCGC	TACTGTTA