

QKGEN[®] Unique Dual Index Barcodes B

(For Illumina)

双端标签特异性接头 B

使用说明书 (V1.0)

本产品仅供科研用途

QKGEN[®] Unique Dual Index Barcodes B (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 97-192 (25 μ M)	5 μ L \times 96
QKGEN [®] Primer Mix (12.5 μ M)	384 μ L

保存方法: -20 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 (μL /反应)
1000ng	25 μM	0	2.5
500ng	25 μM	0	2.5
250ng	25 μM	0	2.5
10-100ng	3 μM	8.3	2.5

文库扩增 (Library Amplification) :

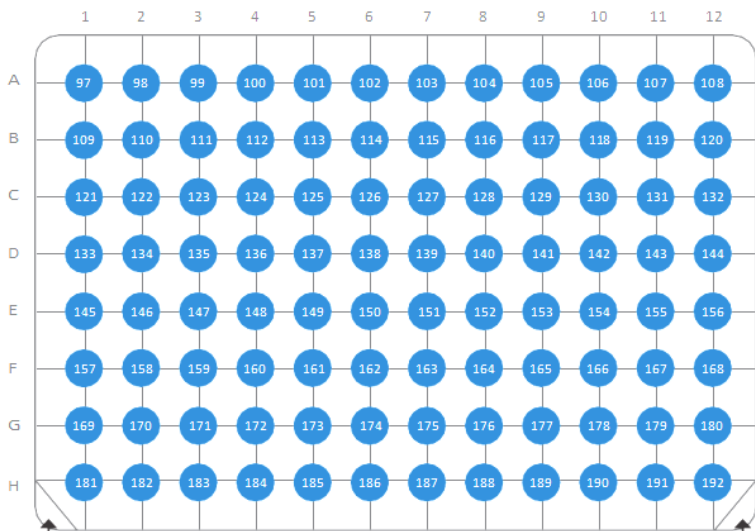
配制文库扩增体系时, Primer Mix 加入量为 2 μL /反应。

文库构建流程:



附 录

一、QKGEN[®] Unique Dual Index Barcodes 试剂盒 96 孔板对应孔位关系



1. 96 种 Unique Dual Index Barcode, 5 μ L/孔, 2 反应/孔。
2. 96 孔板:: Axygen P-96-450V-C; 500 μ 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 97	AATTAATG	CATTAATT	AAGTGAT
UDI 98	TTAATTCC	GGAATTAA	GTCCACTC
UDI 99	GAAGGAAC	GTTCTTTC	CTTGCTAT
UDI 100	CAGGCATA	TATGCCTG	TACATAGA
UDI 101	CCAATACT	AGTATTGG	TAGCCGAT
UDI 102	TCGCGCAT	ATGCGCGA	CGATCCAC
UDI 103	GTGTGAAC	G TTCACAC	TAGCGTTG
UDI 104	GGTGGCAC	GTGCCACC	CTCATCAC
UDI 105	TAGGTGCT	AGCACCTA	TATGCGGT
UDI 106	GAGCGGTT	AACCGCTC	TAACCTCGC
UDI 107	AGGATTAG	CTAATCCT	CGTACGTT
UDI 108	GTGAGCCA	TGGCTCAC	TAAGTACC
UDI 109	AATTATGC	GCATAATT	AAGTCGTG
UDI 110	TTACGCCG	CGGCGTAA	TTCAGAAC
UDI 111	GTAGTGAT	ATCACTAC	GTTATATA
UDI 112	TGGTTGCA	TGCAACCA	ACCGCTAT
UDI 113	GTCCGACC	GGTCGGAC	ACCGTCCT
UDI 114	GCCAGCCG	CGGCTGGC	TGTCTAAC
UDI 115	CTCGTGTC	GACACGAG	ACCGAGGT
UDI 116	GCCGTGGC	GCCACGGC	ACCGATTA

UDI 117	GTAGCCAC	GTGGCTAC	GTTCTACT
UDI 118	GACTTATA	TATAAGTC	ACCTGACT
UDI 119	GAACGTCG	CGACGTTC	GGTAATCG
UDI 120	ATGCGTAG	CTACGCAT	ACCTTAGA
UDI 121	AATTAGAT	ATCTAATT	AAGGAGTT
UDI 122	TTACGATA	TATCGTAA	TGAAGCCA
UDI 123	CTGTACAA	TTGTACAG	GTGTTGTA
UDI 124	CGTGGTTG	CAACCACG	ACCACACG
UDI 125	TGTAGCGG	CCGCTACA	ACCAGGAC
UDI 126	GTGTCATG	CATGACAC	TTGGCAGG
UDI 127	GAACCGGT	ACCGGTTC	ACCATTAA
UDI 128	CACTCTGA	TCAGAGTG	TTGTAGAT
UDI 129	TACACGTT	AACGTGTA	ACCATATC
UDI 130	GAGTGCCT	AGGCACTC	TTGGTGGC
UDI 131	GACGGTCC	GGACCGTC	ACCAACAT
UDI 132	CTGATGCT	AGCATCAG	GTCTGTGC
UDI 133	AATTACCA	TGGTAATT	AAGGCAAT
UDI 134	GTCCTGTT	AACAGGAC	TGCATTGC
UDI 135	GTTAACAG	CTGTAAAC	ACGCCACT
UDI 136	AGCCTGTA	TACAGGCT	AAGTCTCC
UDI 137	ACGTTGCT	AGCAACGT	GGATCTCT
UDI 138	GGTGTGTC	GCAACACC	ACGCGATC
UDI 139	TGGTACTA	TAGTACCA	GGATAATA
UDI 140	CATCATTG	CAATGATG	ACGCTTAT
UDI 141	GACGATTG	CAATCGTC	TTAGGTTG
UDI 142	CGGCCGAA	TTCGCCCG	ACGCACAA
UDI 143	CTGCCGCC	GGCGGCAG	TGAATATA
UDI 144	GCATTAGC	GCTAATGC	GGCAGGAG
UDI 145	AATTGAGA	TCTCAATT	AAGCAATA

UDI 146	TTCAAGAG	CTCTTGAA	TTATGTAT
UDI 147	GTCCGCAA	TTGCGGAC	ACGGCAGA
UDI 148	CAAGGTAG	CTACCTTG	GGACTCTG
UDI 149	AGCGACTC	GAGTCGCT	GTACGTAC
UDI 150	GTAGTATC	GATACTAC	GGAAGGTA
UDI 151	GTGGCGAA	TTCGCCAC	ACGTCCAT
UDI 152	ACGTGCGC	GCGCACGT	ACGTGTTG
UDI 153	GAAGACAG	CTGTCTTC	TGAAGAAT
UDI 154	GCGCAGAT	ATCTGCGC	ACGTAGTC
UDI 155	AGAGACAT	ATGTCTCT	AAGGATAA
UDI 156	CACTTGTT	AACAAGTG	GGCGAGGA
UDI 157	AATTGGTC	GACCAATT	AACAAGGC
UDI 158	TTAAACT	AGTGTTAA	TTGGTCCG
UDI 159	GCTCAGCG	CGCTGAGC	ACGAGCCT
UDI 160	G TTCAGAC	GTCTGAAC	GGAGATTC
UDI 161	CAGTTGCG	CGCAACTG	TGCGCGCT
UDI 162	GCAATATG	CATATTGC	ACGATCTA
UDI 163	CGCAACGT	ACGTTGCG	TGCTGAGG
UDI 164	GGTGAGAT	ATCTCACC	ACTCCTCC
UDI 165	CCAGCTGA	TCAGCTGG	ACTCTACG
UDI 166	GTTGAGCA	TGCTCAAC	TTCGTTCT
UDI 167	CTGTAGTG	CACTACAG	TGCAGTCG
UDI 168	GTGCATCC	GGATGCAC	TGCCGTAA
UDI 169	AAT TCACT	AGTGAATT	AACAGTTG
UDI 170	TTCAGTGA	TCACTGAA	TGTTAACA
UDI 171	AGTCGCGA	TCGCGACT	ACTTCCTG
UDI 172	CCATATCG	CGATATGG	TGAATGCG
UDI 173	AAGCATGG	CCATGCTT	ACTTG TAC
UDI 174	CGTG TCTA	TAGACACG	ACTACTTA

UDI 175	TCAGTTGC	GCAACTGA	TGAGATCG
UDI 176	CGAGAGTG	CACTCTCG	ACTAGCTC
UDI 177	CGAGTACG	CGTACTCG	TTATCAAC
UDI 178	GTGTCTCA	TGAGACAC	TGCTTGTC
UDI 179	CCATCGCT	AGCGATGG	AAGGTAGG
UDI 180	CTTCGCTC	GAGCGAAG	TGGTATGG
UDI 181	AATTCTAA	TTAGAATT	AACACATA
UDI 182	TTCATCTG	CAGATGAA	TGGTGTCT
UDI 183	ACAGTGAA	TTCACTGT	ACACTAAC
UDI 184	AGATGTGA	TCACATCT	TTGTGTTC
UDI 185	GGCAACTG	CAGTTGCC	ACACACCT
UDI 186	CAGCGTCT	AGACGCTG	GGTGTCCG
UDI 187	CTGTCGGT	ACCGACAG	ACACATTC
UDI 188	TCGGCGTT	AACGCCGA	TTGCTTAA
UDI 189	CACACGCG	CGCGTGTG	ACAGCCTT
UDI 190	AGCCAACA	TGTTGGCT	TTGCAGTA
UDI 191	AGCAAGTT	AACTTGCT	ACAGGCAG
UDI 192	ACGCGTCA	TGACGCGT	TTGCCATC