

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

**(For Illumina)**

**双端标签特异性接头 C**

**使用说明书 (V1.0)**

**本产品仅供科研用途**

# QKGEN<sup>®</sup> Unique Dual Index Barcodes C

## (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<sup>®</sup>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 <sup>®</sup> Unique Dual Index Barcodes 193-288 (25 $\mu$ M)	5 $\mu$ L $\times$ 96
QKGEN <sup>®</sup> Primer Mix (12.5 $\mu$ M)	384 $\mu$ 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<sup>®</sup> 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) :

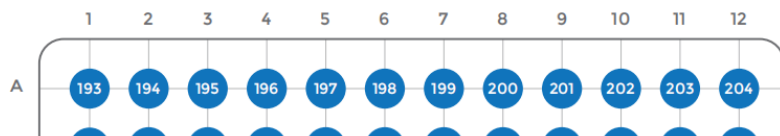
配制文库扩增体系时, Primer Mix 加入量为 2 $\mu\text{L}$ /反应。

### 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[XXXXXXXXX]ACACTCT  
TTCCTACACGACGCTCTCCGATCT  
P7 端 GATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGTCAC[XXXXXXXXX]ATC  
TCGTATGCCGTCTTCTGCTTG

注: [XXXXXXXXX]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 193	AATGAACC	GGTTCATT	ATAATGTA
UDI 194	GGAAGTGG	CCACTTCC	TCGTACCG
UDI 195	CGCTAAGC	GCTTAGCG	GTTATTAT
UDI 196	GTCATAGC	GCTATGAC	ACAGAAGC
UDI 197	GTGACCAT	ATGGTCAC	TTGATAAT
UDI 198	GAAGTTGA	TCAACTTC	ACATCGGA
UDI 199	CGCTACCG	CGGTAGCG	ACATCTAG
UDI 200	CGCCTCTT	AAGAGGCG	GTGAGTGT
UDI 201	GTTCTGGA	TCCAGAAC	ACATCACC
UDI 202	GAGATGCC	GGCATCTC	TTGAACGC
UDI 203	GGTTAGCC	GGCTAACC	ACATGGAT
UDI 204	GGCTCGAC	GTCGAGCC	TGGCAGAG
UDI 205	AATGTGGC	GCCACATT	ATAAGGCT
UDI 206	GTCACAAG	CTTGTGAC	TCTTACTC
UDI 207	CGTAGATA	TATCTACG	ACATGATA
UDI 208	TGCGGCTA	TAGCCGCA	TTGCCTCT
UDI 209	ACA ACTCT	AGAGTTGT	ACATTCTC
UDI 210	GATCGCAG	CTGCGATC	ACATATGT

UDI 211	TGGAACAT	ATGTTCCA	GTTGGTAG
UDI 212	CACATACC	GGTATGTG	ACAACCGC
UDI 213	GCTAAGAA	TTCTTAGC	AAGCAGAC
UDI 214	CTTAACCA	TGGTTAAG	ACAAGGTG
UDI 215	GCCTCAA	TTGAAGGC	ACAAGAGT
UDI 216	AACTGGAA	TTCCAGTT	TTGGAATT
UDI 217	AATGGAAG	CTTCATT	ATAACAGA
UDI 218	TTCAATTC	GAATGAA	TATGTGCG
UDI 219	CGTCCTTA	TAAGGACG	ACAATGCC
UDI 220	CACCGGTA	TACCGGTG	TATGGTTC
UDI 221	AGGAACCA	TGGTTCCT	AGCCACAG
UDI 222	GATCTTCC	GGAAGATC	GCTATCGA
UDI 223	CGGCTTGT	ACAAGCCG	AGCGCTCG
UDI 224	GCCGACAC	GTGTCGGC	TGCGCTTC
UDI 225	CGGCGTAC	GTACGCCG	TCTACGCC
UDI 226	GCCTCATT	AATGAGGC	TATCACAA
UDI 227	CGGCACGA	TCGTGCCG	AGCTTGGT
UDI 228	GCCTGTAG	CTACAGGC	AGCTTATG
UDI 229	AATGGCCT	AGGCCATT	ATAACGAC
UDI 230	TTCCAGGC	GCCTGGAA	GATGGAGT
UDI 231	TTAACCTC	GAGGTAA	TGATCTAA
UDI 232	CGTTAGGA	TCCTAACG	AGCTATAT
UDI 233	GCCATAAT	ATTATGGC	AGCAGAGA
UDI 234	GCCAAGCC	GGCTTGGC	GACGTAAG
UDI 235	CTCGGTCA	TGACCGAG	AGGCCCTGA
UDI 236	CGCAGGCT	AGCCTGCG	TAAGATTA

UDI 237	GCGTCCTC	GAGGACGC	AGGCGAAT
UDI 238	CTACAAGT	ACTGTGAG	TTGTTCTT
UDI 239	GCGTGTCC	GGACACGC	TACTCCTG
UDI 240	GCGACTGA	TCAGTCGC	GACTGGCG
UDI 241	AATGCTTG	CAAGCATT	ATATATAC
UDI 242	TTAATCAA	TTGATTAA	TAGATCGG
UDI 243	CTCTGGAC	GTCCAGAG	AGGCAAGC
UDI 244	GCTCCAGT	ACTGGAGC	TCCAGGTA
UDI 245	CGCGTTAT	ATAACGCG	AGGTCAAG
UDI 246	GCTCAATC	GATTGAGC	TACTACTGG
UDI 247	CGCATGTG	CACATGCG	TCCTTGCG
UDI 248	GCTGCCAA	TTGGCAGC	AGGACCTC
UDI 249	CGAACTAT	ATAGTTCG	TAAGCATT
UDI 250	GCTGTCTC	GAGACAGC	AGGATATT
UDI 251	CGACGGTT	AACCGTCG	TCATTCTGG
UDI 252	GCTTCACA	TGTGAAGC	AGTCCGAC
UDI 253	AATGCGCA	TGCGCATT	ATATTACA
UDI 254	TGAATCGT	ACGATTCA	TCTCCGTG
UDI 255	CTAACCAG	CTGGTTAG	TAATAGGA
UDI 256	GCTTGTGA	TCACAAGC	TTGTAAGA
UDI 257	CTGGCACT	AGTGCCAG	GAATGTAA
UDI 258	GCACGGTC	GACCGTGC	AGTCAATT
UDI 259	CTTGGATT	AATCCAAG	GAACAATT
UDI 260	GCACATCA	TGATGTGC	AGTGGTCA
UDI 261	CTTCAATA	TATTGAAG	TACAATAT
UDI 262	GCAGGTAT	ATACCTGC	AGTGTGAG

UDI 263	CTGAGTCC	GGACTCAG	GAACCTTA
UDI 264	GCATACTT	AAGTATGC	AGTGTACT
UDI 265	AATGCCAC	GTGGCATT	TATACCAT
UDI 266	GGCCGTTG	CAACGGCC	ATCGTGGA
UDI 267	GCATAGAC	GTCTATGC	GCAAGACA
UDI 268	CATTCGCC	GGCGAATG	TACAGGCC
UDI 269	GGCCGCGT	ACGCGGCC	AGTTCCGT
UDI 270	CCTGAAGG	CCTTCAGG	TCAATAT
UDI 271	GGCCTTCA	TGAAGGCC	AGTTCATA
UDI 272	GGCTTACT	AGTAAGCC	TCACCGGC
UDI 273	CCGGTCTG	CAGACCGG	TACAACATA
UDI 274	GGCACTCC	GGAGTGCC	AGTTGGCT
UDI 275	CATGTCGT	ACGACATG	TACGTCTC
UDI 276	GGCAATAA	TTATTGCC	AGTACGCG
UDI 277	AATCTGAA	TTCAGATT	TATACATC
UDI 278	TGCGAAGT	ACTTCGCA	ATCGTTAG
UDI 279	CAAGGAGA	TCTCCTTG	GAATTACG
UDI 280	GGTCTTAG	CTAAGACC	AGTACTGC
UDI 281	CAAGTAAT	ATTACTTG	TACTAACG
UDI 282	GGTCAGTA	TACTGACC	AGTATGTC
UDI 283	CCAGTCAC	GTGACTGG	TAAGTGTG
UDI 284	GGTCATGT	ACATGACC	ATATAAGG
UDI 285	CAACGACC	GGTCGTTG	ATAGAATA
UDI 286	GGTTCTTG	CAAGAACC	TCTAGAGA
UDI 287	CAACATAC	GTATGTTG	ATAGGCCA
UDI 288	GGTTGATT	AATCAACC	ATAGCGGT



