



# **QKGEN™ Unique Dual Index Barcodes D**

**(For Illumina)**

**双端标签特异性接头 D**

**使用说明书**

本产品仅供科研用途

## QKGEN™ Unique Dual Index Barcodes D (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 289-384 (25μM)	5 μL × 96
QKGEN™ Primer Mix (12.5μM)	384 μL

保存方法: -20℃

注意事项:

1. 本试剂盒(货号: QJ0384)共提供 96 种 UDI 双端接头,可进行 96 个样本的混合测序,也可以与 QKGEN™ Unique Dual Index Barcodes A/B/C (1-96/97-192/193-288)试剂盒一起使用,构建 384 种文库进行多样本测序。
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℃) 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) :

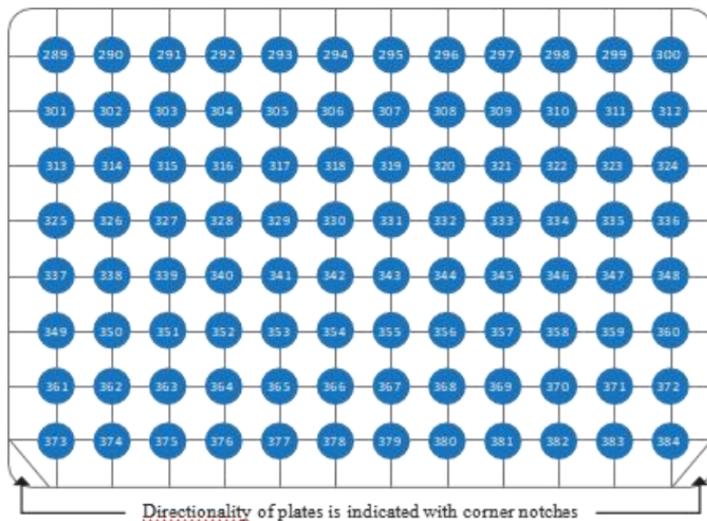
配制文库扩增体系时, Primer Mix 加入量为 2 $\mu\text{L}$ /反应。

### 文库构建流程:



## 附 录

### 一、QKGEN™ 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	CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGAT

### 二、Unique Dual Index Barcode 序列信息:

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

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

### 三、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 289	AATAATAG	CTATTATT	ATATCCTA
UDI 290	GTCGGATA	TATCCGAC	GATAGGAT
UDI 291	CACATTGT	ACAATGTG	ATACTGCG
UDI 292	GGTTACAA	TTGTAACC	TCTCCGA
UDI 293	CACGAATT	AATTCGTG	ATACCTAT
UDI 294	GGTATGCA	TGCATACC	TCGTTATA
UDI 295	CAGGACCT	AGGTCCTG	TAATTAGT
UDI 296	GGACTGGC	GCCAGTCC	ATTATTCG
UDI 297	CAGAGCGA	TCGCTCTG	TAATAATC
UDI 298	GGAGCTAG	CTAGCTCC	ATTATCGC
UDI 299	CAGCTTAG	CTAAGCTG	TAATATAG
UDI 300	CCGCCAAC	GTTGGCGG	ATTAGACA
UDI 301	CCTATGCG	CGCATAGG	ATAGATCT
UDI 302	GGATCCGA	TCGGATCC	TAGAGCTC
UDI 303	GGATTGTT	AACAATCC	ATTACAAT
UDI 304	CAGGTGAA	TTCACCTG	ATTGAAGT
UDI 305	GGAACATT	AATGTTCC	ATTGATTC
UDI 306	CAAGACTC	GAGTCTTG	TAACTAAG

UDI 307	GTGCGGCG	CGCCGCAC	ATTGACAA
UDI 308	CAATCTTC	GAAGATTG	ATTGTGTT
UDI 309	GTGCTCAG	CTGAGCAC	ATTGCTGA
UDI 310	CAACGCAT	ATGCGTTG	TACATCCT
UDI 311	GTGTAGGC	GCCTACAC	ATTCACGG
UDI 312	CAACTATA	TATAGTTG	TAATTGAC
UDI 313	GCATTGCA	TGCAATGC	ATAGTCTG
UDI 314	CTTACATG	CATGTAAG	TATAAGAC
UDI 315	GTGTATAG	CTATACAC	ATTCTTAC
UDI 316	AACAATCA	TGATTGTT	TCGATTCA
UDI 317	CACTATCT	AGATAGTG	ATTCTCTA
UDI 318	GTGATCTC	GAGATCAC	ATTCGATG
UDI 319	CAATCCGT	ACGGATTG	TAAGCTAC
UDI 320	GTTTCGTA	TGACGAAC	ATTCGTGT
UDI 321	CCACTTAA	TTAAGTGG	ATGAATAT
UDI 322	GTTGAATG	CATTCAAC	ATGAAGGA
UDI 323	CCAGCAAG	CTTGCTGG	ATGAACTG
UDI 324	GTTAGTTC	GAACTAAC	ATGAGCAC
UDI 325	CCAGGCTA	TAGCCTGG	ATAGGAAT
UDI 326	GGTCCGCT	AGCGGACC	TAGACGGC
UDI 327	CACTTCCA	TGGAAGTG	GAATAGTG
UDI 328	GTTAAGTT	AACTTAAC	ATGACACC
UDI 329	AATCTAGT	ACTAGATT	ATGACGTT
UDI 330	GTTAATGA	TCATTAAC	ATGTATTA
UDI 331	CATACCTA	TAGGTATG	ATGTACCT
UDI 332	GTATGAGT	ACTCATAC	TCAATGGA
UDI 333	TAGATTAC	GTAATCTA	GAGGTCAC

UDI 334	GACCGAAT	ATTCGGTC	TAACCAGA
UDI 335	CGTTACTT	AAGTAACG	ATGTGATT
UDI 336	GACCTGAC	GTCAGGTC	TAACAGCC
UDI 337	TTCGGCAT	ATGCCGAA	TATCTGTC
UDI 338	CCGAAGGC	GCCTTCGG	AGATAACT
UDI 339	GACCATGA	TCATGGTC	ATGTGGCA
UDI 340	GACGTGCA	TGCACGTC	TAACACTG
UDI 341	CGGCGACA	TGTCGCCG	ATGTCTGG
UDI 342	GACTAGGT	ACCTAGTC	TCAAGCAC
UDI 343	CGGTAGAC	GTCTACCG	ATGGTAAC
UDI 344	GACAGCTT	AAGCTGTC	ATGGTTCA
UDI 345	CGCTCGCA	TGCGAGCG	TCCAACGG
UDI 346	GAGATAGT	ACTATCTC	GAACAGAA
UDI 347	AACACTAC	GTAGTGTT	ATGGCCAG
UDI 348	GTGTGCGG	CCGCACAC	TCACGTGA
UDI 349	ACCGTGTG	CACACGGT	ATACAACC
UDI 350	TGGACACA	TGTGTCCA	TATGTTGG
UDI 351	AACTACTT	AAGTAGTT	ATGCTAGA
UDI 352	TTGAGGAA	TTCCTCAA	ATGCTGTC
UDI 353	AACTTAAT	ATTAAGTT	GATTGACC
UDI 354	TTGACTTA	TAAGTCAA	ATCATACT
UDI 355	AACTTGCC	GGCAAGTT	ATCAGCTA
UDI 356	GTGCACGT	ACGTGCAC	ATCACGCA
UDI 357	AACTTCGG	CCGAAGTT	GAGTTCTG
UDI 358	TGTACGAA	TTCGTACA	ATCACCGT
UDI 359	AACTCAGC	GCTGAGTT	TCTTGCAA
UDI 360	TGTATTCT	AGAATACA	ATCTAATC

UDI 361	GTCGTCGG	CCGACGAC	ATACATGA
UDI 362	CCGACGCA	TGCGTCGG	TATTGAAT
UDI 363	AACGAAGA	TCTTCGTT	GCTAGTCT
UDI 364	TGTCGGAT	ATCCGACA	ATCTAGCG
UDI 365	AACGACCG	CGGTCGTT	TCTCGCTA
UDI 366	TGTCGTGC	GCACGACA	ATCTGAAG
UDI 367	AACGTCAA	TTGACGTT	TCTAATGC
UDI 368	TGTAAGGT	ACCTTACA	GATAGCGC
UDI 369	ACTGAGAC	GTCTCAGT	CTCCTACA
UDI 370	TTGAATCG	CGATTCAA	TATCAAGC
UDI 371	AACGGTGT	ACACCGTT	ATCGCATT
UDI 372	AACCAAGT	CACTGGTT	ATCCAGAA
UDI 373	AATATAAC	GTTATATT	ATACTATT
UDI 374	GGCGCGTG	CACGCGCC	GATGATAC
UDI 375	TTGTTACC	GGTAACAA	GCGGTATT
UDI 376	AACCTTGC	GCAAGGTT	ATCCGTTC
UDI 377	TGTGCAAT	ATTGCACA	AGAATTCA
UDI 378	AACCGAGG	CCTCGGTT	TATGACTT
UDI 379	TTGGATAC	GTATCCAA	GAGTCAGA
UDI 380	AACCGCAC	GTGCGGTT	AGAAGACG
UDI 381	TGTTAGTG	CACTAACA	AGAAGCTT
UDI 382	TATTCGTA	TACGAATA	GAGTAGCA
UDI 383	ATAATTGT	ACAATTAT	AGAACCAA
UDI 384	TAGTCCAA	TTGACTA	GCTTGGTG