

QKGEN[®] NGS Tn5 Index Primers Kit
(for Illumina)

使用说明书 (V1.0)

本产品仅供科研用途

本试剂盒是 QKGEN[®] 转座酶法快速 DNA 文库构建试剂盒 (for Illumina) 的专用配套试剂盒, 其中提供 8 种 N5XX 引物和 12 种 N7XX 引物, 可用于构建 96 种不同双端 Index 标记的二代测序文库。

产品信息:

产品名称	货号	规格
QKGEN [®] NGS Tn5 Index Primers Kit for Illumina	QJI4096	96T

产品组分:

组分名称	浓度	规格
N501-N508 (index2-i5-Primer)	10 μ M	30 μ L/管
N701-N712 (index1-i7-Primer)	10 μ M	20 μ L/管

保存方法: -30 ~ -15 $^{\circ}$ C 保存; \leq 0 $^{\circ}$ C 运输;

注意事项:

1. 使用本试剂盒前, 请将各组分置于冰上解冻, 解冻后颠倒混匀, 短暂离心后置于冰上待用, 切勿将试剂长时间置于高温 (>25 $^{\circ}$ C) 环境, 应避免反复冻融。
2. 在使用 Index 引物时请随时更换一次性手套, 避免交叉污染。

附 录

一、PCR 扩增引物序列

PCR Primer Mix:

P5 : 5'-AATGATACGGCGACCACCGA-3'

P7: 5'-CAAGCAGAAGACGGCATAACGA-3'

Index primer:

N5XX:

5'-AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACACXXXXXXXXTCGTCGGCAGCGTC-3' (XXXXXXXX 为 index 2 - i5 序列)

N7XX:

5'-CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGATXXXXXXXXGTCTCGTGGGCTCGG-3' (XXXXXXXX 为 index 1 - i7 序列)

二、Index 选择策略

Illumina 测序仪使用绿色荧光标记 dG/dT, 使用红色荧光标记 dC/dA (如表 1 所示)。为了测序能够顺利进行, 必须保证每一个循环 (即每个碱基位置) 的颜色平衡。因此, 在组合多种 Index 时, 每个循环里绿色和红色两种荧光信号都必须存在。表 2 展示了一些正确或错误的组合方式。表 3 列举了一些针对本试剂盒的组合方式, 但并非全部的组合方式, 在使用过程中可根据颜色平衡原则自由组合。

表 1 Index 序列表

	编号	引物 Index 序列	测序时 Index 序列
Index 1 (i7) Primer	N701	TCGCCTTA	T A A G G C G A
	N702	CTAGTACG	C G T A C T A G
	N703	TTCTGCCT	A G G C A G A A
	N704	GCTCAGGA	T C C T G A G C
	N705	AGGAGTCC	G G A C T C C T
	N706	CATGCCTA	T A G G C A T G
	N707	GTAGAGAG	C T C T C T A C
	N708	CCTCTCTG	C A G A G A G G
	N709	AGCGTAGC	G C T A C G C T
	N710	CAGCCTCG	C G A G G C T G
	N711	TGCCTCTT	A A G A G G C A
	N712	TCCTCTAC	G T A G A G G A

	编号	引物 Index 序列	测序时 Index 序列	
			MiSeq, HiSeq 2000/2500	MiniSeq, NextSeq, HiSeq 3000/4000
Index 2 (i5) Primer	N501	TAGATCGC	TAGATCGC	GCGATCTA
	N502	CTCTCTAT	CTCTCTAT	ATAGAGAG
	N503	TATCCTCT	TATCCTCT	AGAGGATA
	N504	AGAGTAGA	AGAGTAGA	TCTACTCT
	N505	GTAAGGAG	GTAAGGAG	CTCCTTAC
	N506	ACTGCATA	ACTGCATA	TATGCAGT
	N507	AAGGAGTA	AAGGAGTA	TACTCCTT
	N508	CTAAGCCT	CTAAGCCT	AGGCTTAG

表 2-1 Index 组合示例-正确示例

样品数量	样品编号	Index1-i7 编号	Index1-i7 序列	Index2-i5 编号	Index2-i5 序列
4	1	N705	G G A C T C C T	N503	T A T C C T C T
	2	N706	T A G G C A T G	N503	T A T C C T C T
	3	N701	T A A G G C G A	N504	A G A G T A G A
	4	N702	C G T A C T A G	N504	A G A G T A G A
			√√√√√√√√		√√√√√√√√

表 2-2 Index 组合示例-错误示例

样品数量	样品编号	Index1-i7 编号	Index1-i7 序列	Index2-i5 编号	Index2-i5 序列
4	1	N705	G G A C T C C T	N502	C T C T C T A T
	2	N706	T A G G C A T G	N502	C T C T C T A T
	3	N701	T A A G G C G A	N503	T A T C C T C T
	4	N702	C G T A C T A G	N503	T A T C C T C T
			√√√√√√√√		√√√√××××

注: √ 表示测序时绿色通道和红色通道都有信号

× 表示测序时只有绿色通道有信号或者只有红色通道有信号

表 3 本试剂盒可用的组合方式

样品数量	N7XX 选择	N5XX 选择	
1	任意 N7XX	任意 N5XX	
2	选择 1: N701 和 N702		
	选择 2: N702 和 N704		
3	选择 1: N701、N702 和 N704		
	选择 2: N703、N705 和 N706		
4-5	选择 1: N701、N702、N704 及其他任意 N7XX		
	选择 2: N703、N705、N706 及其他任意 N7XX		
6	N701-N706		
7-12	选择 1: N701-N706 及其他任意 N7XX		选择 1: N501 和 N502
	选择 2: N701、N702、N704 及其他任意 N7XX		选择 2: N503 和 N504
		选择 3: N505 和 N506	
		选择 1: N501 和 N502	
	选择 3: N703、N705、N706 及其他任意 N7XX	选择 2: N503 和 N504	
		选择 3: N505 和 N506	
选择 1: N501、N502 及其他任意 N5XX			
>12	N701-N706 及其他任意 N7XX	选择 2: N503、N504 及其他任意 N5XX	
		选择 3: N505、N506 及其他任意 N5XX	
		选择 1: N501、N502 及其他任意 N5XX	