

适用于 NGS 的建库的连接接头与 UDI-PCR 引物组合体系使用说明书 For Illumina TruSeq V2

说明:

本组合体系包含 NGS 建库的连接接头和 UDI-PCR 引物 (UDI-ILMN-TS-XXX+XXX) 2 个试剂组分; 连接接头为短接头与长引物 UDI-PCR (UDI-ILMN-TS-XXX+XXX) 组合使用; 适用于构建 illumina TruSeq A/T 连接类型文库, 在 illumina 测序仪器上进行测序。

连接接头提供带 UMI 接头 (UMI-ILMN-TS) 的和常规不带 UMI 接头 (ShortADPT-ILMN-TS) 的 2 个类型。

长引物 UDI-PCR (UDI-ILMN-TS-XXX+XXX) 有超过 350 种 index (i5 + i7) 可供选择。P5 和 P7 index 已经组合并预先混合好, 前 100 种每 4 种 index 的碱基完全平衡。



含分子标签 (UMI) 的illumina测序的NGS文库结构

与标准 illumina TruSeq 文库比较, 何因生物 UMI 接头有以下特点:

- 1, 文库接头与插入片段之间多了 5~7 个 bp 碱基, 分别在 R1 和 R2 的 5 端;
- 2, 由于 illumina 测序时插入片段第 1 个碱基质量较差, UMI 的第 1 个碱基不用于 UMI 计算;
- 3, UMI 的第 2-4 位置的 3 个 bp 碱基为 ATGC 随机碱基, 用于 UMI 计算识别, 种类为 $4^3 \times 4^3$;
- 4, UMI 的第 5~7 个碱基中最末端是固定 A/T, 第 5~7 个碱基不用于 UMI 计算。

带 UMI 数据的简要分析策略:

下机数据中, reads1 和 reads2 的 5 端第 2-4 位置的 3 个随机碱基用于 UMI 分子标签计算, 如要切除 UMI 需将 reads1 和 reads2 的 5 端的前 7 个碱基切除, 其余序列用于比对分析。对于含 Adaptor 的 reads, 首先进行去除 Adaptor, 然后再进行带 UMI 数据处理。

NOTE: 在 NGS 建库时, 将相关建库试剂盒的连接接头和 PCR 引物更换为本组合的连接接头 (UMI-ILMN-TS 或 ShortADPT-ILMN-TS) 和 UDI-PCR 引物 (UDI-ILMN-TS-XXX+XXX) 即可。

