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 lib 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-TruSeq）2 个试剂组分；连接接头为短接头与长引物 UDI-PCR（UDI-ILMN-TruSeq）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（UMI-ILMN-TruSeq）的和常规不带 UMI（Short Adaptor-ILMN）的 2 个类型。

长引物 UDI-PCR（UDI-ILMN-TruSeq）有超过 100 种 index（i5 + i7）可供选择。P5 和 P7 index 已经组合并预先混合好，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， **UMI 的第 1-4 位置的 4 个 bp 碱基为 ATGC 随机碱基**，用于 UMI 计算识别；

3， 由于 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，R1 和 R2 的 5 端 的 reads 第 1-4 位置的 4 个随机碱基用于 UMI 分子标签计算；去除 reads 前 7 个碱基后的其余序列用于比对分析。

版权© Homgen Co., Ltd

sales@homgen.com
上海何因生物科技有限公司
上海市松江区车阳路 239 号 2 幢 7 层

NOTE：在 NGS 建库时，将相关建库试剂盒的连接接头和 PCR 引物更换为本组合体系连接接头和 UDI-PCR 引物即可。

1、连接接头使用说明

何因 NGS 连接接头采用短接头模式，带 UMI 的短接头内部嵌入 5~7 个随机碱基的分子标签。

	货号	规格
带 UMI（UMI-ILMN-TruSeq）	Cat:AB10003_UMI	100 rxns /管
常规不带 UMI（Short Adaptor-ILMN）	Cat:AB10002_ADPT	100 rxns /管

1. 接头浓度：15 μM；直接用于商品化 NGS 建库试剂盒连接体系里即可；
2. -20℃ 保存，在 4℃融化后，操作使用；避免在超过＞25℃的环境中融化使用；
3. 建库推荐使用量：常规 DNA 投入量 200-500 ng　　2.5 μL / rxns
   cf DNA 投入量 20-30ng　　1-1.5 μL / rxns

2、UDI-PCR 引物使用说明

由于何因生物的 NGS 连接接头是短接头，因此需要用长的 UDI-PCR 引物配合使用，**不可直接用通用 P5/P7 引物进行 PCR。**

	货号	规格
长引物 UDI-PCR（UDI-ILMN-TruSeq）	Cat:UDI10001_xxx	25 rxns /管/种

1. 引物浓度：10 μM；直接用于商品化 NGS 建库试剂盒 PCR 体系里即可；
2. -20℃ 保存，在 4℃融化后，操作使用；避免在超过＞25℃的环境中融化使用；
3. 50 μL 的 PCR 体系加 4 μL。
4. **退火温度 Tm 值建议设置在 50-57℃。**

引物 UDI-PCR（UDI-ILMA-TruSeq）的不同 index（i5 + i7）示例：

何因生物UDI-PCR引物（UDI-ILMN-TruSeq）不同index（i5+i7）

UDI名称	I5端编码	I5-InPrimer	I5-RVS	I7端编码	I7-Index
UDI-TruSeq_011+015	011_A1	CGATGACT	AGTCATCG	015_B1	CGTACATG
UDI-TruSeq_012+016	012_A2	GTCAACTG	CAGTTGAC	016_B2	GACTGTCA
UDI-TruSeq_013+017	013_A3	ACTCTGAC	GTCAGAGT	017_B3	TCAGTCAC
UDI-TruSeq_014+018	014_A4	TAGGCTGA	TCAGCCTA	018_B4	ATGCAGGT
UDI-TruSeq_015+019	015_B1	CGTACATG	CATGTACG	019_C1	CACACTCA
UDI-TruSeq_016+020	016_B2	GACTGTCA	TGACAGTC	020_C2	GCACTGGT
UDI-TruSeq_017+021	017_B3	TCAGTCAC	GTGACTGA	021_C3	TGTTGATC
UDI-TruSeq_018+022	018_B4	ATGCAGGT	ACCTGCAT	022_C4	ATGGACAG
UDI-TruSeq_019+023	019_C1	CACACTCA	TGAGTGTG	023_D1	ACAGGGTC

版权© Homgen Co., Ltd

sales@homgen.com
上海何因生物科技有限公司
上海市松江区车阳路 239 号 2 幢 7 层