

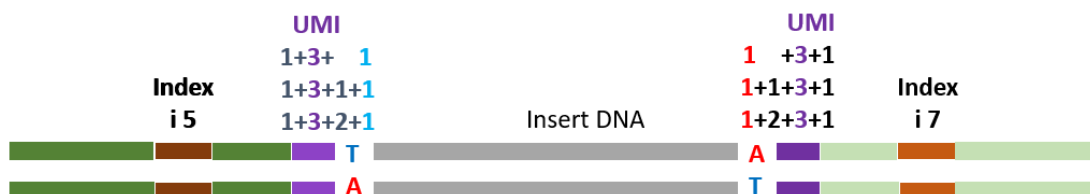
适用于 NGS 的建库的连接接头与 UDI-PCR 引物组合体系使用说明书 For illumina lib v2

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。

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。

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。

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	TGAGTGIG	023_D1	ACAGGGTC