

Version 1

Code No. AG12532

AG12533

AG12534

AccuNext 转座体建库适配接头 引物 (Illumina)

AccuNext Index for Transposome Library Kit (Illumina)

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.

➤ 产品概述

本产品是针对 illumina 高通量测序平台文库构建专用的双 Index 的 PCR 接头引物试剂盒，专门搭配 *AccuNext* Fast Tagment DNA Library Prep Kit for Illumina 试剂盒使用（Code No. AG12518 / AG12519 / AG12520 / AG12521 / AG12522 / AG12523 / AG12524 / AG12525）。本产品包含 N5 index Primer (N5XX) 以及 N7 index Primer (N7XX)，最多可用于构建 96 种不同组合的双端 Index 标记文库。本产品中提供的所有试剂都经过严格的质量控制和功能验证，最大程度上保证了文库构建的稳定性和重复性。

最后构建的文库结构如下图 1 所示：



图 1：文库结构

➤ 产品组成

用途	品名	AG12532 (12 rxns)	AG12533 (48 rxns)	AG12534 (96 rxns)	管盖颜色
N5 index Primers (N501 ~ N508)	N501 (20 μM)	9 μl	18 μl	18 μl	●
	N502 (20 μM)	9 μl	18 μl	18 μl	●
	N503 (20 μM)	-	18 μl	18 μl	●
	N504 (20 μM)	-	18 μl	18 μl	●
	N505 (20 μM)	-	-	18 μl	●
	N506 (20 μM)	-	-	18 μl	●
	N507 (20 μM)	-	-	18 μl	●
	N508 (20 μM)	-	-	18 μl	●
N7 index Primers (N701 ~ N712)	N701 (20 μM)	5 μl	6 μl	12 μl	●
	N702 (20 μM)	5 μl	6 μl	12 μl	●
	N703 (20 μM)	5 μl	6 μl	12 μl	●
	N704 (20 μM)	5 μl	6 μl	12 μl	●
	N705 (20 μM)	5 μl	6 μl	12 μl	●
	N706 (20 μM)	5 μl	6 μl	12 μl	●
	N707 (20 μM)	-	6 μl	12 μl	●
	N708 (20 μM)	-	6 μl	12 μl	●
	N709 (20 μM)	-	6 μl	12 μl	●
	N710 (20 μM)	-	6 μl	12 μl	●
	N711 (20 μM)	-	6 μl	12 μl	●
	N712 (20 μM)	-	6 μl	12 μl	●

➤ 保存及运输

保存温度：-20°C 保存

运输温度：-20°C 冰袋运输或干冰运输

➤ 注意事项

1. 本产品中 N5 index Primer / N7 index Primer 的浓度为 20 μ M，单个文库构建的接头引物使用量可根据所用建库试剂盒进行调整。
2. NovaSeq 6000 v1.5 reagents, MiniSeq, NextSeq, HiSeq 3000 / 4000 等测序平台 N5 index Primer 序列在 Sample Sheet 输入或测序拆分 Index 序列时，需要反向互补，具体序列可参考附录 1: Index 序列信息。
3. 使用不同 Index 引物时要注意防交叉污染。
4. 本产品使用前应置于室温（20 ~ 25°C）充分溶解（切勿加热溶解），溶解完全后置于冰上暂存备用。

➤ Index 选择策略

illumina 测序平台使用绿色荧光标记 dG / dT，红色荧光标记 dC / dA。为了保证测序顺利进行，每个测序循环里绿色和红色两种荧光信号都必须存在。因此在 Index 使用数量比较少时需要考虑 Index 内部各位置碱基绿色和红色信号的平衡，下面为一些推荐的 Index 组合：

样本数量	N7 index Primer 的选择	N5 index Primer 的选择
1	任意 N7XX	任意 N5XX
2	选择 1: N701 和 N702	任意 N5XX
	选择 2: N702 和 N704	任意 N5XX
3	选择 1: N701、N702 和 N704	任意 N5XX
	选择 2: N703、N705 和 N706	任意 N5XX
4-5	选择 1: N701、N702、N704 及其他任意 N7XX	任意 N5XX
	选择 2: N703、N705、N706 及其他任意 N7XX	任意 N5XX
6	N701、N702、N703、N704、N705 和 N706	任意 N5XX
7-12	选择 1: N701~N706 及其他任意 N7XX	任意 N5XX
	选择 2: N701、N702、N704 及其他任意 N7XX	选择 1: N501 和 N502
		选择 2: N503 和 N504
		选择 3: N505 和 N506
	选择 3: N703、N705、N706 及其他任意 N7XX	选择 1: N501 和 N502
		选择 2: N503 和 N504
选择 3: N505 和 N506		
> 12	N701~N706 及其他任意 N7XX	选择 1: N501 和 N502 及其他任意 N5XX
		选择 2: N503 和 N504 及其他任意 N5XX
		选择 3: N505 和 N506 及其他任意 N5XX

上表仅是一些推荐的 Index 组合,在实际过程中可根据下图示意自行选择适合的 Index 组合:

正确选择实例

样品数量	样品编号	N7 index Primer (i7)				N5 index Primer (i5)													
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
			✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

错误选择实例

样品数量	样品编号	N7 index Primer (i7)				N5 index Primer (i5)													
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】✓: 测序时绿色通道和红色通道都有信号;

×: 测序时只有绿色通道有信号或只有红色通道有信号。

➤ 序列信息

N5 index Primer

5' -AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC [i5 Index] TCGTCGGCAGCGTC- 3'

N7 index Primer

5' -CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT [i7 Index] GTCTCGTGGGCTCGG- 3'

[i5 Index] 表示 8 bp 的 i5 Index 序列, [i7 Index] 表示 8 bp 的 i7 Index 序列。具体序列可参考附录 1: Index 序列信息。

➤ 附录 1: Index 序列信息

组分	引物 Index 序列	Sample Sheet 输入 / 测序时 Index 序列		
		NovaSeq 6000 v1.0 reagents, MiSeq, HiSeq 2000 / 2500	NovaSeq 6000 v1.5 reagents, MiniSeq, NextSeq, HiSeq 3000 / 4000	
N5 index Primers	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
N7 index Primers	N701	TAAGGCCGA	TCGCCTTA	
	N702	CGTACTAG	CTAGTACG	
	N703	AGGCAGAA	TTCTGCCT	
	N704	TCCTGAGC	GCTCAGGA	
	N705	GGACTCCT	AGGAGTCC	
	N706	TAGGCATG	CATGCCTA	
	N707	CTCTCTAC	GTAGAGAG	
	N708	CAGAGAGG	CCTCTCTG	
	N709	GCTACGCT	AGCGTAGC	
	N710	CGAGGCTG	CAGCCTCG	
	N711	AAGAGGCA	TGCCTCTT	
	N712	GTAGAGGA	TCCTCTAC	