

YWG™illumina 分子标签接头套装 操作说明书

(Cat#YG002,Version1.3)

欣基（杭州）生物科技有限公司
WisGen BioSciences Co.,Ltd

For Research Use Only.

Not For Use in Diagnostic Procedures.

仅供科研使用

目录

产品概述	1
实验原理	2
产品组成	3
保存及运输条件	3
适用范围	3
注意事项	4
使用方法	5
序列信息	5
1.文库结构序列	5
2.Primer Plate-Index 序列	6

产品概述

YWG™ illumina 分子标签接头套装是适配于 illumina 高通量测序平台的 DNA 文库构建试剂盒。试剂盒中 YWG UMI-Stubby Adapter for illumina 为不完整的双端 UMI-Y 型接头，可兼容多种 T- A 连接的文库构建试剂盒。在接头连接后，Insert DNA 两端分别添加上 4 ~ 5 nt 的 Unique Molecular Identifier (UMI)，可用于检测低频突变。此外，试剂盒中的 YWG UDI Index Primer Set 包含特异性搭配的 Unique Dual Index (UDI)，经文库扩增后，可实现两个完全独立 Index 双重检验，最大限度降低标签跳跃和错配 (Index hopping & Index misassignment)，从而保证最终进入分析流程的 reads 最接近样品的真实情况。

本套试剂盒包含 96 种不同 Truseq UDI Primer，试剂盒中提供的所有接头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。

YWG UMI-Stubby Adapter 采取双向 HPLC 等多重纯化工艺，核酸纯度 > 95%，提高 DNA 建库时的连接效率。YWG UDI Index Primer Set 采取一体式合成纯化技术，物理层面隔绝 Index primer 之间的污染，避免在 HPLC，PAGE 等纯化过程中产生的 Index 之间的污染的可能性，污染率降低到十万分之一以下。

实验原理

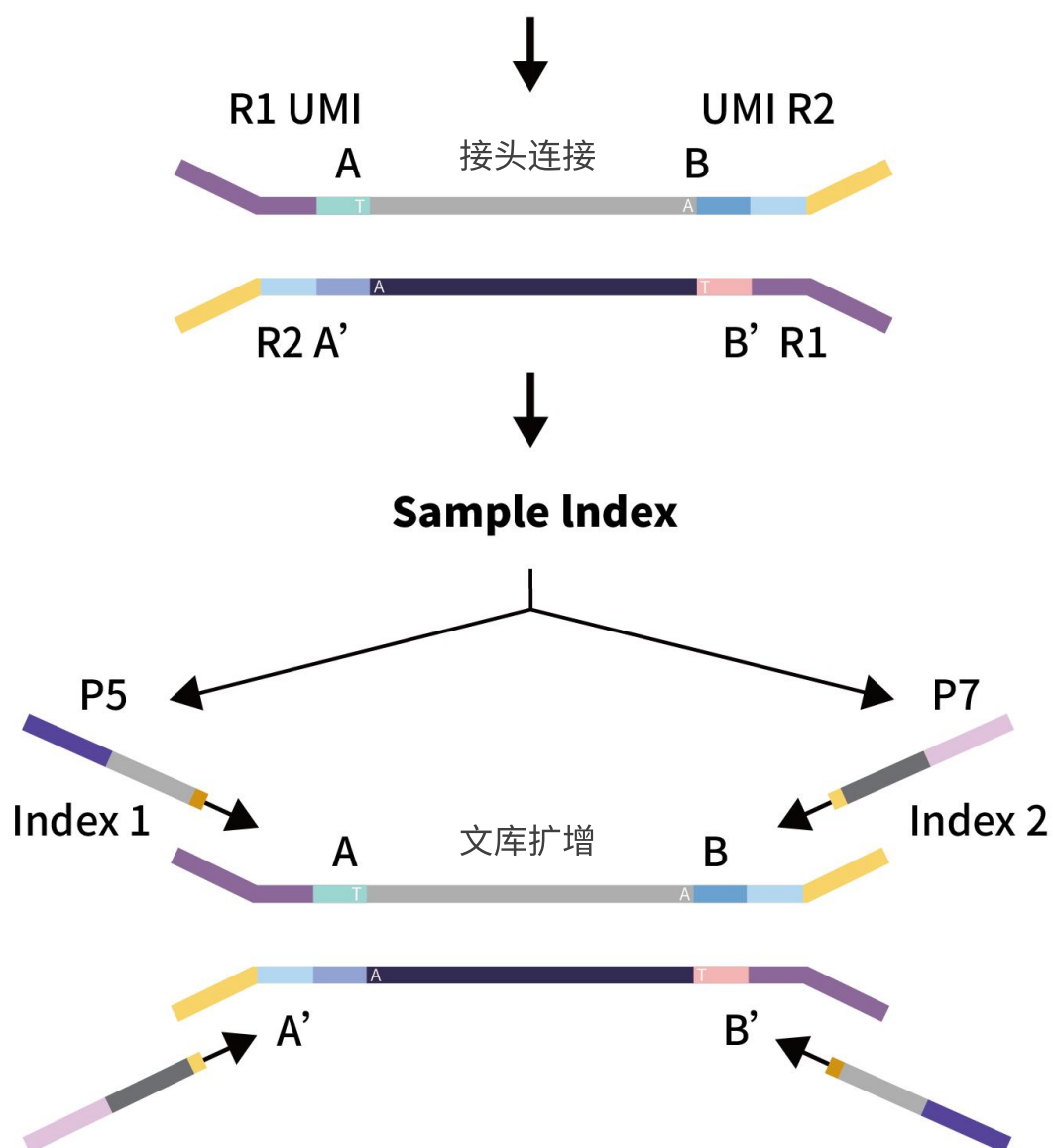


图 1. YWG™ illumina 分子标签接头套装文库结构图

产品组成

主货号：YG002 规格：24 rxns / 96 rxns

产品组分	浓度	24 rxns (YG002-024)	96 rxns (YG002-096)
YWG UDI Index Primer plate	20 μmol	5 μL *24 管	5 μL *96 孔板
YWG UMI-Stubby Adapter*	15 μmol	72 μL	288 μL

 * YWG UMI-Stubby Adapter 的投入量依照 DNA 样本投入量而定，具体浓度请参考注意事项中的附表。

保存与运输条件

-30 ~ -15 $^{\circ}\text{C}$ 保存， $\leq 0^{\circ}\text{C}$ 运输。

适用范围

本产品为 DNA 建库实验流程中的接头模块，适用于 illumina 测序平台的 DNA 建库试剂盒，推荐配套使用 xLiBPreP™快速建库试剂盒 (WisGen# NC001)、xLiBPreP™一步酶切建库试剂盒 (WisGen#NC002)。

适用的测序平台：

- 1) illumina MiSeq , MiniSeq , NextSeq , NovaSeq 等；
- 2) GenoLab M；
- 3) MGISEQ-T7 测序平台转化后测序。

注意事项

文库接头使用量需要依据不同试剂盒要求的 DNA 起始量而定,如使用配套建库试剂盒请参考下表:(如进行 cfDNA 建库,不需要进行接头比例稀释)

Input DNA	接头稀释倍数	浓度 (μM)
1 μg ~ 50 ng	不需要稀释	15
49 ng ~ 25 ng	2 倍稀释	7.5
24 ng ~ 10 ng	5 倍稀释	3
9 ng ~ 5 ng	10 倍稀释	1.5
< 5 ng	20 倍稀释	0.75

 注意: YWG UMI-Stubby Adapter 原管的量为 15 μmol 。

使用方法

以 xLiBPreP™ 快速建库试剂盒为例：接头使用如下，在连接步骤中添加方式：

组分	体积 (μL)
末端修复（步骤 1.2.4）产物	60
YWG UMI-Stubby Adapter for illumina	3
Nuclease-Free Water	7
总体积	70

接头使用如下，在扩增步骤中添加方式：

组分	体积 (μL)
纯化后的连接产物（步骤 2.6.7）	20
● 2× HiFi Master Mix *	25
○ YWG UDI Index-Primer	5
总体积	50

序列信息

1. 文库结构序列

1.1 YWG UMI-Stubby Adapter for illumina

名称	序列
YWG UMI-Stubby Adapter	5'-ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTNNNN(N)-(S)-T-3' 3'-CTGACCTCAAGTCTGCACACGAGAAGGCTAGANNNN(N)-p-5'
p 代表磷酸化修饰，(S)代表硫代修饰，N 代表随机碱基，4 ~ 5 个碱基，建议从二个 N 开始参与计算	

1.2 YWG UDI Index-Primer

名称	序列
P5 PCR Primers	5'-AATGATACGGCGACCACCGAGATCTACAC[i5]ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATC-S-T-3'
P7 PCR Primers	5'-CAAGCAGAAGACGGCATACGAGAT[i7]GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATC-S-T-3'

(S)代表硫代修饰，[i5]表示 8 bp i5 Index 序列，[i7]表示 8 bp i7 Index 序列。

2. Primer Plate-Index 序列

2.1 Primer 序列

Well Position	Primer name	i5 Index (Forward)	i5 Index (Reverse Complement)	i7 Index (All Illumina Systems)
1-A	YWG Index Primer, Index 1	ACCGACAA	TTGTCGGT	ACGTTACC
1-B	YWG Index Primer, Index 2	AGTGGCAA	TTGCCACT	ATAAGGCG
1-C	YWG Index Primer, Index 3	CACAGACT	AGTCTGTG	CAGCGATT
1-D	YWG Index Primer, Index 4	CGACACTT	AAGTGTCG	GTGCCATA
1-E	YWG Index Primer, Index 5	GACTTGTG	CACAAGTC	GCACAAC
1-F	YWG Index Primer, Index 6	GTGAGACT	AGTCTCAC	CTTCTGAG
1-G	YWG Index Primer, Index 7	GTTCCATG	CATGGAAC	CTCTGGTT
1-H	YWG Index Primer, Index 8	TAGCTGAG	CTCAGCTA	TTACCGAG
2-A	YWG Index Primer, Index 9	CTTCGCAA	TTGCGAAG	CTGTGTTG
2-B	YWG Index Primer, Index 10	GTGGTATG	CATACCAC	CTTACCTG
2-C	YWG Index Primer, Index 11	CACTGTAG	CTACAGTG	TAGTGACC
2-D	YWG Index Primer, Index 12	AGACGCTA	TAGCGTCT	CCTTGTAG
2-E	YWG Index Primer, Index 13	CAACTCCA	TGGAGTTG	TTCTCTCG
2-F	YWG Index Primer, Index 14	AACACGCT	AGCGTGTT	AACCGAAG

Well Position	Primer name	i5 Index (Forward)	i5 Index (Reverse Complement)	i7 Index (All Illumina Systems)
2-G	YWG Index Primer, Index 15	TGGATGGT	ACCATCCA	GTTTCATGG
2-H	YWG Index Primer, Index 16	TTCGAAGC	GCTTCGAA	GTCCTAAG
3-A	YWG Index Primer, Index 17	AACACCAC	GTGGTGTT	TGAGGTGT
3-B	YWG Index Primer, Index 18	TGAGCTGT	ACAGCTCA	CGTTGCAA
3-C	YWG Index Primer, Index 19	CACAGGAA	TTCCTGTG	CGAGACTA
3-D	YWG Index Primer, Index 20	TGACAACC	GGTTGTCA	GCTGGATT
3-E	YWG Index Primer, Index 21	TGTTCCGT	ACGGAACA	AACGGTCA
3-F	YWG Index Primer, Index 22	CCTAGAGA	TCTCTAGG	TTCGTACC
3-G	YWG Index Primer, Index 23	GCATAACG	CGTTATGC	GCTGTAAG
3-H	YWG Index Primer, Index 24	CAGTGCTT	AAGCACTG	GAAGGTTC
4-A	YWG Index Primer, Index 25	CGTATCTC	GAGATACG	GATCCATG
4-B	YWG Index Primer, Index 26	CGTCAAGA	TCTTGACG	GATTCAGC
4-C	YWG Index Primer, Index 27	CCATGAAC	GTTTCATGG	GACATGGT
4-D	YWG Index Primer, Index 28	GGTACTTC	GAAGTACC	TAACGAGG
4-E	YWG Index Primer, Index 29	ACCGCTAT	ATAGCGGT	ACAGACCT
4-F	YWG Index Primer, Index 30	TTCCAGGT	ACCTGGAA	CTGTTAGG

Well Position	Primer name	i5 Index (Forward)	i5 Index (Reverse Complement)	i7 Index (All Illumina Systems)
4-G	YWG Index Primer, Index 31	TCGAACCT	AGGTTCGA	GTCGAAGA
4-H	YWG Index Primer, Index 32	TAGTGCCA	TGGCACTA	GAAGAGGT
5-A	YWG Index Primer, Index 33	GGTACGAA	TTCGTACC	GCCTATCA
5-B	YWG Index Primer, Index 34	AAGCATCG	CGATGCTT	TCACGTTC
5-C	YWG Index Primer, Index 35	GCCAATAC	GTATTGGC	GCATGTCT
5-D	YWG Index Primer, Index 36	CTGTATGC	GCATACAG	ATGGTTGC
5-E	YWG Index Primer, Index 37	CTTAGGAC	GTCCTAAG	TCTCTTCC
5-F	YWG Index Primer, Index 38	TCAGCCTT	AAGGCTGA	CACAAGTC
5-G	YWG Index Primer, Index 39	ACATGCCA	TGGCATGT	GAGCTCAA
5-H	YWG Index Primer, Index 40	GATGGAGT	ACTCCATC	TCTGAGAG
6-A	YWG Index Primer, Index 41	CGATCGAT	ATCGATCG	AACAACCG
6-B	YWG Index Primer, Index 42	TACTCCAG	CTGGAGTA	TGTGCGTT
6-C	YWG Index Primer, Index 43	AGCTACCA	TGGTAGCT	ACTCCATC
6-D	YWG Index Primer, Index 44	TCGACAAG	CTTGTCGA	CCTATACC
6-E	YWG Index Primer, Index 45	TATGACCG	CGGTCATA	AGTGTTGG
6-F	YWG Index Primer, Index 46	AGCCAACT	AGTTGGCT	TCTTGACG

Well Position	Primer name	i5 Index (Forward)	i5 Index (Reverse Complement)	i7 Index (All Illumina Systems)
6-G	YWG Index Primer, Index 47	GATCTTGC	GCAAGATC	TGAACCTG
6-H	YWG Index Primer, Index 48	CCTCGTTA	TAACGAGG	ACCGCATA
7-A	YWG Index Primer, Index 49	AAGACACC	GGTGTCTT	ACTCGTTG
7-B	YWG Index Primer, Index 50	GATACCTG	CAGGTATC	TAGTTGCG
7-C	YWG Index Primer, Index 51	AACCGAAC	GTTCGGTT	TGTGACTG
7-D	YWG Index Primer, Index 52	GCTGAATC	GATTCAGC	TTAGGTCG
7-E	YWG Index Primer, Index 53	AGCTAGTG	CACTAGCT	TGGCATGT
7-F	YWG Index Primer, Index 54	CTAGCTCA	TGAGCTAG	CGTCTTGT
7-G	YWG Index Primer, Index 55	GTAAAGCG	CGCTTAAC	CCGACTAT
7-H	YWG Index Primer, Index 56	CGATTGGA	TCCAATCG	GAAGTACC
8-A	YWG Index Primer, Index 57	CATCTGCT	AGCAGATG	CCTATGGT
8-B	YWG Index Primer, Index 58	ACCTCTTC	GAAGAGGT	AAGAGCCA
8-C	YWG Index Primer, Index 59	ATCGCAAC	GTTGCGAT	CGAAGAAC
8-D	YWG Index Primer, Index 60	AGTTGTGC	GCACAACT	GCAAGATC
8-E	YWG Index Primer, Index 61	GAACGAAG	CTTCGTTC	AGAAGCGT
8-F	YWG Index Primer, Index 62	GGAAGAGA	TCTCTTCC	CGTGATCA

Well Position	Primer name	i5 Index (Forward)	i5 Index (Reverse Complement)	i7 Index (All Illumina Systems)
8-G	YWG Index Primer, Index 63	GTCATCGT	ACGATGAC	AGCTAACC
8-H	YWG Index Primer, Index 64	CCAACGAA	TTCGTTGG	CAGGTATC
9-A	YWG Index Primer, Index 65	CTCTCAGA	TCTGAGAG	TGTACACC
9-B	YWG Index Primer, Index 66	ACGGACTT	AAGTCCGT	ACAGCTCA
9-C	YWG Index Primer, Index 67	GTTGCTGT	ACAGCAAC	GGTGTCTT
9-D	YWG Index Primer, Index 68	TGTCGACT	AGTCGACA	AGAGCCTT
9-E	YWG Index Primer, Index 69	CGTCTAAC	GTTAGACG	AGCGGAAT
9-F	YWG Index Primer, Index 70	AACACTGG	CCAGTGTT	CCAAGTTG
9-G	YWG Index Primer, Index 71	TCAGACAC	GTGTCTGA	GCCTTGTT
9-H	YWG Index Primer, Index 72	AGAAGGAC	GTCCTTCT	TCTCTAGG
10-A	YWG Index Primer, Index 73	TCGTCTGA	TCAGACGA	GTATGCTG
10-B	YWG Index Primer, Index 74	CATGTGTG	CACACATG	GTTAAGGC
10-C	YWG Index Primer, Index 75	TCTAGTCC	GGACTIONA	AAGAAGGC
10-D	YWG Index Primer, Index 76	AAGGCTCT	AGAGCCTT	GCAATGGA
10-E	YWG Index Primer, Index 77	AACCAGAG	CTCTGGTT	TAACCGGT
10-F	YWG Index Primer, Index 78	ACTATCGC	GCGATAGT	GTACCTTG

Well Position	Primer name	i5 Index (Forward)	i5 Index (Reverse Complement)	i7 Index (All Illumina Systems)
10-G	YWG Index Primer, Index 79	GTCCTAAG	CTTAGGAC	AACTTGCC
10-H	YWG Index Primer, Index 80	TGACCGTT	AACGGTCA	AAGCACTG
11-A	YWG Index Primer, Index 81	CAATAGCC	GGCTATTG	TGATGTCC
11-B	YWG Index Primer, Index 82	TGCCTCAA	TTGAGGCA	AAGCCACA
11-C	YWG Index Primer, Index 83	GACGAACT	AGTTCGTC	AGGTTCGA
11-D	YWG Index Primer, Index 84	CCTAACAG	CTGTTAGG	CTGGAGTA
11-E	YWG Index Primer, Index 85	CGCCTTAT	ATAAGGCG	CATGGAAC
11-F	YWG Index Primer, Index 86	ACAACAGC	GCTGTTGT	GACTATGC
11-G	YWG Index Primer, Index 87	AGACCTTG	CAAGGTCT	CAATGTGG
11-H	YWG Index Primer, Index 88	GCGTTAGA	TCTAACGC	CCAAGCAA
12-A	YWG Index Primer, Index 89	CATTCGTC	GACGAATG	GTCCTTCT
12-B	YWG Index Primer, Index 90	ATCTGACC	GGTCAGAT	ACACGGTT
12-C	YWG Index Primer, Index 91	TTCGTACG	CGTACGAA	CATGTTCC
12-D	YWG Index Primer, Index 92	AAGACGAG	CTCGTCTT	GAACATCG
12-E	YWG Index Primer, Index 93	CTCGTTCT	AGAACGAG	ATGGTCCA
12-F	YWG Index Primer, Index 94	TGTGGCTT	AAGCCACA	TGGATCAC

Well Position	Primer name	i5 Index (Forward)	i5 Index (Reverse Complement)	i7 Index (All Illumina Systems)
12-G	YWG Index Primer, Index 95	AGACATGC	GCATGTCT	AAGGCTGA
12-H	YWG Index Primer, Index 96	TCTAGGAG	CTCCTAGA	TGTTTCGAG

2.2 illumina 测序平台 Index 填写表单

填写内容	测序平台及试剂版本号
i5 index Forward	NovaSeq® 6000 (v1.0 reagent kits)
	HiSeq® 2000, 2500
	NextSeq® 1000, 2000 (using v2 Sample Sheet)
	MiSeq®
	MiniSeq® (rapid reagent kits)
i5 index Reverse Complement	NovaSeq® 6000 (v1.5 reagent kits)
	HiSeq® 3000, 4000, X
	NextSeq® 1000, 2000 (using v1 Sample Sheet)
	NextSeq® 500, 550
	MiniSeq® (standard reagents)
	iSeq® 100

欣基（杭州）生物科技有限公司

WisGen BioSciences Co., Ltd

Add：浙江省杭州市钱塘区福城路 400 号 6 幢 8 层

Service：order@wisgen.cn Web：www.wisgen.cn

