

NextSeq 500 和 NextSeq 550 测序系统

定制引物指南

简介	3
试剂卡盒中的引物孔的位置	3
兼容的引物组合	4
准备和添加定制引物	4
设置定制引物的运行	5
版本历史修订记录	6
技术协助	7



本文件及其内容为 Illumina, Inc. 及其关联机构 (“Illumina”) 专有，仅供客户在使用本文所述产品时按合同规定使用，不得用于其他目的。未经因美纳事先书面同意，任何情况下不得为任何其他目的使用和分发本文件及其内容，且不得以任何方式传播、披露或复制本文件及其内容。因美纳不通过本文件转让其专利、商标、版权或普通法权利下的任何许可，也不转让任何第三方的类似权利。

为确保正确和安全地使用本文件所述产品，必须由合格和受过适当培训的人员严格遵守本文件中的说明来实施操作。在使用产品之前，必须充分阅读和理解本文件的所有内容。

如果未能完整阅读并严格遵守本文件中的所有说明来实施操作，可能会导致产品损坏、人员受伤，以及其他财产受到损害，并将使适用于产品的所有保修条款无效。

因美纳不承担因不当使用本文件中所述产品（包括其部分或软件）而产生的任何责任。

© 2020 Illumina, Inc. 保留所有权利。

所有商标均为因美纳公司或其各自所有者的财产。关于具体的商标信息，请访问 www.illumina.com/company/legal.html。

简介

在 NextSeq 500 和 NextSeq 550 系统上使用定制测序引物，需要在运行设置过程中添加两个额外的步骤。

1. 将 2 mL 准备好的定制引物加入 NextSeq 试剂卡盒的定制引物孔中。参见第 4 页的 [准备定制引物](#)。
2. 在运行设置中，将定制引物指定为运行的一部分。

其他步骤遵循 [NextSeq 500 系统指南](#)（文件号 15046563）或 [NextSeq 550 系统指南](#)（文件号 15069765）中所述的运行设置工作流程。



注意

使用定制引物进行 Index 2 Read，需要 NCS v1.4 或更高版本以及 NextSeq 500/550 Kit v2 或更高版本。

定制引物和 PhiX

当定制引物用于 Read 1 或 Read 2 时，软件会指示仪器从储液孔 7 和 8 中吸取引物。因此，因美纳引物不用于测序运行。

如果因美纳引物未用于 Read 1 或 Read 2，则不会对可选的因美纳 PhiX 质控品进行测序。若要将 PhiX 质控品与定制引物一起使用，请联系因美纳技术支持获取指导。



注意

无论使用何种标签测序引物，都不会针对 index read 生成 PhiX 质控品的测序数据。

试剂卡盒中的引物孔的位置

在同一运行中，可组合使用因美纳引物与定制引物。根据指定的组合，软件会从相应的储液孔中吸取引物。

示例：如果将定制引物用于 Read 2，但不用于 Read 1，则软件会从因美纳引物孔（20 号）中吸取 Read 1 引物，从定制引物孔（8 号）中吸取 Read 2 引物。

定制引物	定制引物孔位置编号
Read 1 定制引物	7
Read 2 定制引物	8
标签 1 定制引物	9
标签 2 定制引物 *	

* 在 NCS v1.4 或更高版本和 NextSeq 500/550 Kit v2 或更高版本中，可使用标签 2 定制引物。

因美纳引物	因美纳引物孔位置编号 (v2 或更高版本的试剂卡盒)
BP10—Read 1 引物	20
BP11—Read 2 引物	21
BP14—标签 1 引物和 标签 2 引物混合液	22

因美纳引物	因美纳引物孔位置编号 (v1 试剂卡盒)
BP10—Read 1 引物	20
BP11—Read 2 引物	21
BP12—标签 1 引物	22
BP13—标签 2 引物	18

运行中使用的引物孔记录在 Primers.xml 文件中，该文件位于 Reagents 文件夹中。

兼容的引物组合

由于 NextSeq 的引物设计和双标签工作流程，定制引物和因美纳引物的组合使用会受到限制。

- ▶ 如果使用 Read 1 定制引物，则必须使用标签 2 定制引物。
- ▶ 如果使用 Read 2 定制引物，则必须使用标签 1 定制引物。

有关标签工作流程的概述，请参阅 *NextSeq、MiSeq 和 HiSeq 平台标签测序概述* (文件号 15057455)。

使用 v2 或更高版本的试剂卡盒

组合	Read 1 引物	标签 1 引物	标签 2 引物	Read 2 引物
均为因美纳引物	BP10—Read 1	BP14—标签 1	BP14—标签 2	BP11—Read 2
Read 1 定制	Read 1 定制	BP14—标签 1	标签 2 定制	BP11—Read 2
Read 2 定制	BP10—Read 1	标签 1 定制	BP14—标签 2	Read 2 定制
均为定制引物	Read 1 定制	标签 1 定制	标签 2 定制	Read 2 定制

使用 v1 试剂卡盒

组合	Read 1 引物	标签 1 引物	标签 2 引物	Read 2 引物
均为因美纳引物	BP10—Read 1	BP12—标签 1	BP13—标签 2	BP11—Read 2
Read 1 定制	Read 1 定制 *	BP12—标签 1	不兼容	BP11—Read 2
Read 2 定制	BP10—Read 1	标签 1 定制	BP13—标签 2	Read 2 定制
均为定制引物	Read 1 定制 *	标签 1 定制	不兼容	Read 2 定制

* 若使用 v1 试剂卡盒，Read 1 定制引物仅适用于单标签运行。

准备和添加定制引物

继续操作之前，请检查 NextSeq 试剂卡盒，确保其已完全解冻。

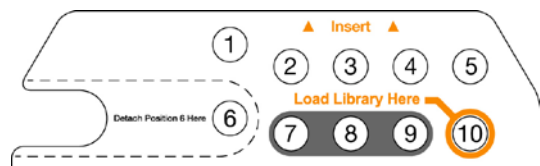
准备定制引物

- 1 如果定制引物为冷冻状态，请解冻需要使用的引物。
- 2 使用 HT1 稀释各定制引物，最终浓度为 0.3 μM ，体积为 2 mL。

添加定制引物至试剂卡盒

- 1 使用无尘纸擦净覆盖于每个定制引物孔上的铝箔密封膜。

图 1 定制引物孔位置



引物孔位置编号	定制引物
7	Read 1 定制引物
8	Read 2 定制引物
9	标签 1 定制引物 标签 2 定制引物

- 2 使用干净的移液吸头，刺穿覆盖于每个定制引物孔上的铝箔密封膜。
- 3 在试剂卡盒的相应孔内加入以下体积的定制引物。加入引物时，应避免接触铝箔密封膜。

引物孔位置编号	体积	定制引物
7	2 mL	Read 1 定制引物
8	2 mL	Read 2 定制引物
9	2 mL	标签 1 定制引物
9	各引物 1 mL	标签 1 定制引物和 标签 2 定制引物
9	2 mL	标签 2 定制引物

设置定制引物的运行

定制引物的使用是在运行设置中指定的。

- ▶ 对于 Local Run Manager 运行模式，请在 Local Run Manager 软件的“Create Run”（创建运行）页面中指定定制引物。
- ▶ 对于手动运行模式，请在 NCS 的“Run Setup”（运行设置）页面中指定定制引物。

在 Local Run Manager 模式配置中指定定制引物

- 1 在 Local Run Manager 软件的“Create Run”（创建运行）页面中，指定定制引物的信息。
- 2 运行参数设定完成后，选择“Next”（下一步）。

在手动运行模式配置中指定定制引物

- 1 在 NCS 的“Run Setup”（运行设置）页面中，勾选要用于运行的各定制引物的复选框。在运行中，软件指示吸管从相应的储液孔中吸取引物。
- 2 运行参数设定完成后，选择“Next”（下一步）。

版本历史修订记录

文件	日期	更改描述
文件号 15057456 v03	2020 年 3 月	更新标题，详述 NextSeq 500 和 NextSeq 550。
文件号 15057456 v02	2019 年 6 月	<p>修订了与 NCS 4.0 兼容的说明。</p> <ul style="list-style-type: none"> • 添加了在 Local Run Manager 模式下指定引物的说明。 • 删除了在 BaseSpace Prep Tab 中指定引物的说明。 • 将独立模式更新为手动模式。 <p>将对 v2 试剂卡盒的引用更新为 v2 或更高版本。</p>
文件号 15057456 v01	2015 年 10 月	<p>强调软件指示吸管从试剂卡盒上相应的储液槽中吸取引物，具体取决于哪些 read 使用的是定制引物而不是因美纳引物。</p> <p>列出将 2 mL 标签 2 定制引物加入 9 号引物孔。</p>
15057456 D	2015 年 5 月	<p>添加了对 <i>NextSeq 550 系统指南</i> (部件号 15069765) 的引用。</p> <p>更新了试剂盒名称以包含 550，如 NextSeq 500/550 Kit v2。</p>
15057456 C	2015 年 2 月	<p>添加 v2 试剂卡盒中提供的因美纳引物。</p> <p>添加关于标签 2 定制引物的使用信息，该引物需要使用 NextSeq 500 Kit v2。</p>
15057456 B	2014 年 9 月	<p>将安全数据表 (SDS) 的 URL 更新为 support.illumina.com/sds.html。</p> <p>将 NextSeq 的产品标记™更新为 ®。</p>
15057456 A	2014 年 8 月	初始版本。

技术协助

如需技术协助，请联系因美纳技术支持。

网站：www.illumina.com

电子邮箱：chinasupport@illumina.com

因美纳客户支持电话号码

地区	免费热线	区域
北美地区	+1.800.809.4566	
澳大利亚	+1.800.775.688	
奥地利	+43 800006249	+43 19286540
比利时	+32 80077160	+32 34002973
中国	400.066.5835	
丹麦	+45 80820183	+45 89871156
芬兰	+358 800918363	+358 974790110
法国	+33 805102193	+33 170770446
德国	+49 8001014940	+49 8938035677
中国香港	800.960.230	
爱尔兰	+353 1800936608	+353 016950506
意大利	+39 800985513	+39 236003759
日本	0800.111.5011	
荷兰	+31 8000222493	+31 207132960
新西兰	0800.451.650	
挪威	+47 800 16836	+47 21939693
新加坡	+1.800.579.2745	
韩国	+82 80 234 5300	
西班牙	+34 911899417	+34 800300143
瑞典	+46 850619671	+46 200883979
瑞士	+41 565800000	+41 800200442
中国台湾	00.806.651.752	
英国	+44 8000126019	+44 2073057197
其他国家（地区）	+44.1799.534000	

安全数据表（SDS）——可在因美纳网站 support.illumina.com/sds.html 上获取。

产品文档——可从 support.illumina.com 下载。

Illumina 中国

上海办公室 • 电话 (021) 6032-1066 • 传真 (021) 6090-6279
北京办公室 • 电话 (010) 8455-4866 • 传真 (010) 8455-4855
技术支持热线 400-066-5835 • chinasupport@illumina.com • www.illumina.com.cn

仅供研究使用。不得用于诊断。
© 2020 Illumina, Inc. 保留所有权利。



Illumina Academy



@illumina

illumina[®]