

MGIEasy

双 Barcode 外显子组捕获辅助试剂盒使用说明书

货号: 1000018647(16 RXN); 1000018648(96 RXN)

试剂盒版本号: V1.0

说明书版本号: A0

版本历史

说明书 版本	试剂盒 版本	修订 日期	修订内容摘要
A0	V1.0	2020 年 3 月	♦ 首次发布

提示：请下载最新版说明书，对照相应版本的试剂盒使用。

搜索货号或产品名，下载说明书：www.mgitech.cn/download/files

Doc. #: B02-188-A0

目录

第一章 产品信息	1
1.1 产品描述	1
1.2 适用范围	1
1.3 适配 MGI 测序平台	1
1.4 试剂盒组分	2
1.5 试剂盒储存条件及有效期	2
1.6 客户自备物料清单	3
1.7 注意事项	4
第二章 样本要求及处理	5
2.1 样本准备	5
2.2 样本定量和质控	5
2.3 试剂准备	5
第三章 实验操作标准流程	6
3.1 杂交前样本制备	7
3.2 杂交捕获	7
3.3 杂交后 PCR	8
3.4 杂交后 PCR 产物纯化	9

第一章 产品信息

1.1 产品描述

MGIEasy双Barcode外显子组捕获辅助试剂盒作为通用捕获辅助试剂盒，可以灵活搭配DNA文库制备试剂盒和各类商业探针及杂交洗脱试剂盒使用，用于MGI高通量测序平台外显子文库的构建和杂交。其中DNA文库制备试剂盒可以选择MGIEasy通用DNA文库制备试剂套装，商业探针及杂交洗脱试剂盒可以选择MGIEasy外显子组捕获V4探针试剂套装或MGIEasy外显子组捕获V5探针试剂套装，或其他商业探针及其配套的杂交试剂。



建库和杂交全流程可参考使用如下推荐组合套装。

表 1 MGIEasy 系列文库制备试剂套装汇总

组合方式	DNA 文库制备试剂盒	探针及杂交洗脱试剂盒	捕获辅助试剂盒
1	MGIEasy 双分子标签通用 文库制备试剂套装	MGIEasy 外显子组捕获 V4 探 针试剂套装 (1000007745)	MGIEasy 双 Barcode 外显子组捕获辅助试剂
2	(1000018643, 1000018644)	MGIEasy 外显子组捕获 V5 探 针试剂套装 (1000007746)	盒 (1000018647, 1000018648)
3		其他商业探针及杂交洗脱试剂盒	

1.2 适用范围

本试剂盒用于辅助人源样本外显子区域的杂交捕获，适用于Nimblegen /IDT等公司的DNA探针产品，MGI/Agilent等公司的RNA探针产品，基于MGI高通量测序平台进行外显子文库的构建。

1.3 适配 MGI 测序平台

构建的文库可使用MGISEQ/DNBSEQ平台进行PE100/PE150测序

1.4 试剂盒组分

MGIEasy 双 Barcode 外显子组捕获辅助试剂盒规格为 16 RXN 和 96 RXN。每个试剂盒包含 4 个组分。其货号、组分信息如下。

表 2 MGIEasy 双 Barcode 外显子组捕获辅助试剂盒 (16 RXN) (货号: 1000018647)

试剂盒种类	组分信息	管盖颜色	规格及数量
MGIEasy 双 Barcode 外显子组捕获辅助试剂盒 货号: 1000018647	Post-PCR Enzyme Mix	蓝	800 μ L/支 \times 1 支
	Dual Barcode PCR	蓝	96 μ L/支 \times 1 支
	Primer Mix	黄	16 μ L/支 \times 1 支
	Block 3	黄	16 μ L/支 \times 1 支
	Block 4	黄	16 μ L/支 \times 1 支

表 3 MGIEasy 双 Barcode 外显子组捕获辅助试剂盒 (96 RXN) (货号: 1000018648)

试剂盒种类	组分信息	管盖颜色	规格及数量
MGIEasy 双 Barcode 外显子组捕获辅助试剂盒 货号: 1000018648	Post-PCR Enzyme Mix	蓝	1200 μ L/支 \times 4 支
	Dual Barcode PCR	蓝	576 μ L/支 \times 1 支
	Primer Mix	黄	96 μ L/支 \times 1 支
	Block 3	黄	96 μ L/支 \times 1 支
	Block 4	黄	96 μ L/支 \times 1 支

1.5 试剂盒储存条件及有效期

MGIEasy 双 Barcode 外显子组捕获辅助试剂盒:

- 储存温度: -25°C -- -15°C
- 运输条件: 干冰运输
- 有效期: 见试剂盒标签

1.6 客户自备物料清单

表 4 客户自备物料清单

仪器	移液器 漩涡混匀仪 小型离心机 磁力架 DynaMag™-2 (Thermo Fisher, Cat. No. 12321D) 或同类产品 96 孔磁力架 (BioMag, Cat. No. BMB-96) 或同类产品 PCR 仪 Thermomixer 或水浴锅等恒温设备 Nutator 或其他可旋转混匀设备 真空离心浓缩仪 (离心 pendorf, Cat. No. 5305000398)
试剂	NF water, Nuclease free water (Ambion, Cat. No. AM9937) M-280 磁珠 (Invitrogen, Cat. No. 112.06D) 其他探针试剂盒所需试剂
耗材	0.2 mL PCR 管 (Axygen, Cat. No. PCR-02-C) 或同类产品 96 孔 PCR 板 (Axygen, Cat. No. PCR-96M2-HS-C) 或同类产品 1.5 mL 离心管 (Axygen, Cat. No. MCT-150-C) 或同类产品 2.0 mL 离心管 (Axygen, Cat. No. MCT-200-C) 或同类产品 0.2 mL 八连管盖 (Axygen, Cat. No. PCR-02CP-C) 或同类产品 滤芯吸头 (Axygen, Cat. No. TF-100) 或同类产品 高透光度粘性盖膜 (ABI, Cat. No. 4306311) 其他探针试剂盒所需耗材
DNA 文库制备试剂盒	双分子标签通用文库制备试剂套装 (MGI, Cat. No. 1000018643, 1000018644)
探针及杂交洗脱试剂盒	MGIEasy 外显子组捕获 V4 探针试剂套装 (MGI, Cat. No. 1000007745) 或 MGIEasy 外显子组捕获 V5 探针试剂套装 (MGI, Cat. No. 1000007746) 或其他商业探针杂交所需的试剂盒

1.7 注意事项

- 本产品仅用于科研用途，不用于临床诊断，使用前请仔细阅读本说明书。
- 文库制备流程推荐根据具体的实验设计、样本特征、测序应用和设备进行调整和优化。本说明书提供的实验流程是通用的，可根据需要调整反应参数，以优化性能、效率。
- 试剂套装各组分使用前提前取出，将 Enzyme 瞬时离心后置于冰上待用。其他组分于室温解冻。解冻后上下颠倒数次充分混匀，瞬时离心后置于冰上待用。
- 为避免样品交叉污染，推荐使用带滤芯的吸头，吸取不同样品时请更换吸头。
- 推荐在带热盖的 PCR 仪中进行各步骤反应，使用前应预热 PCR 仪至反应温度附近。
- PCR 产物因操作不当极易产生气溶胶污染，进而影响实验结果准确性。因此，我们推荐将 PCR 反应体系配制区和 PCR 产物纯化检测区进行强制性的物理隔离；使用专用的移液器等设备；并定时对各实验区域进行清洁（使用 0.5% 次氯酸钠或 10% 漂白剂进行擦拭清理），以保证实验环境的洁净度。
- 所有样本及试剂应避免直接接触皮肤和眼睛，切勿吞咽，一旦发生这种情况立即用大量清水冲洗并及时到医院就诊。
- 所有样本和各种废弃物均应按相关法规规定污染物处理。
- 若您有其他疑问，请联系 MGI 技术支持：MGI-service@genomics.cn

第二章 样本要求及处理

2.1 样本准备

样本指杂交前用“MGIEasy 双分子标签通用DNA文库制备试剂套装”所制备的，用于进行杂交反应的PCR产物。

2.2 样本定量和质检

样本的定量和片段分布检测可参考样本制备的对应说明书中的“PCR产物质检”步骤。

2.3 试剂准备

- 杂交捕获前，取出试剂盒中 Block 3/Block 4，室温或者冰上融化后备用，参考步骤 3.2 进行杂交捕获，Block 3/Block 4 为 MGI 高通量测序平台专用的双分子标签接头 Block 序列，用于替换其他测序平台的接头 Block。
- 杂交捕获后，取出试剂盒中 Post-PCR Enzyme Mix/Dual Barcode PCR Primer Mix，室温或者冰上融化后参考步骤 3.3 进行探针杂交洗脱后的扩增。

第三章 实验操作标准流程



注意：若使用 MGI Exome V4 Probe 或 MGI Exome V5 Probe，则需分别搭配 MGIEasy 外显子组捕获 V4 探针试剂套装或 MGIEasy 外显子组捕获 V5 探针试剂套装，并参考对应套装的使用说明书完成杂交捕获流程；



注意：若使用其他商业探针，则需参考其对应的杂交捕获流程，将其中针对非 MGI 高通量测序平台所用的接头封闭序列替换为本试剂盒中的 Block 3 和 Block 4，推荐体积和替换方案如下：

表 5 针对主流商业探针推荐 Block3 和 Block4 使用体积和替换方案

商业探针	Block 3 体积 (μL)	Block 4 体积 (μL)	商业探针杂交试剂盒中需替换的组份
MGI Exome V4 Probe	1	1	无
MGI Exome V5 Probe	1	1	无
SureSelect Human All Exon V6 等同类 SureSelect 系列探针	1	1	SureSelect Indexing Block #3
SeqCap® EZ Human Exome Probes v3.0	1	1	SeqCap HE Universal Oligo; SeqCap HE Index 2 Oligo; SeqCap HE Index 4 Oligo; SeqCap HE Index 6 Oligo; SeqCap HE Index 8 Oligo
xGen® Exome Research Panel	1	1	xGen® Universal Blocking Oligo (1); xGen® Universal Blocking Oligo (2); xGen® Universal Blocking Oligo (3)



注意：不同主流类型探针的杂交后 PCR 循环数推荐如下：

表 6 针对主流商业探针推荐杂交后 PCR 循环数

商业探针	杂交后 PCR 循环数
MGI Exome V4 Probe	13
MGI Exome V5 Probe	13
SeqCap® EZ Human Exome Probes v3.0	13
xGen® Exome Research Panel	6 (12 pool)–10 (1 pool)
SureSelect Human All Exon V6 等同类 SureSelect 系列探针	13

以 NimbleGen® SeqCap EZ 捕获流程为例，实验操作标准流程如下：

3.1 杂交前样本制备

参考MGIEasy 双分子标签通用DNA文库制备试剂套装使用说明书，进行杂交前样本制备。根据杂交所需要的样本投入量，按照对应说明书推荐的PCR cycle数进行扩增，并根据其附录的接头使用规则合理选择建库接头。然后根据RSS_SeqCap_EZ_UGuide_v5.4说明书中要求的需求量投入制备好的PCR产物进行杂交。

3.2 杂交捕获

- 3.2.1 参照 RSS_SeqCap_EZ_UGuide_v5.4 Chapter 5 St 离心.3, 使用该试剂盒中的 Block 3 和 Block 4 组份替换 St 离心 4 中 SeqCap HE Universal Oligo 和 SeqCap HE Index 2/4/6/8 Oligo。Block3 和 Block4 使用体积和替换方案参考表 4。



注意：若 Block 3 与 Block 4 的使用体积高于探针试剂盒说明书中被替换试剂的使用体积，则可将该两个组份在样品浓缩前加入，通过浓缩控制反应体系的体积。（如本例中，RSS_SeqCap_EZ_UGuide_v5.4 要求将 Multiplex Hybridization Enhancing Oligo Pool 加入样品中一并进行浓缩，控制体积。）

- 3.2.2 参照 RSS_SeqCap_EZ_UGuide_v5.4 Chapter 5-6 进行杂交捕获。本说明书未提及的试剂均以探针产品说明书为准。



注意：洗脱后进行下一杂交后 PCR 时要求含磁珠样品体积要求为 44 μL ，如探针产品说明书中要求的扩增样品体积小于 44 μL ，使用 NF water 将样品体积补为 44 μL 。如探针产品说明书中要求的扩增样品体积大于 44 μL ，需要将洗脱液体积减少为 44 μL 。

3.3 杂交后 PCR

3.3.1 在冰上配制杂交后 PCR 反应液（见表 7）。

表 7 杂交后 PCR 反应液的配制

组分	单个反应体积
Post-PCR Enzyme Mix	50 μ L
Dual Barcode PCR Primer Mix	6 μ L
Total	56 μ L

3.3.2 用移液器吸取 56 μ L 配制好的杂交后 PCR 反应液加入 44 μ L 含有磁珠捕获样品的 PCR 管中，涡旋震荡 3 次，每次 3 s，瞬时离心将反应液收集至管底。

3.3.3 将步骤 3.3.2 所述 PCR 管置于 PCR 仪上，按照表 8 的条件进行杂交后 PCR 反应。

表 8 杂交后 PCR 反应条件

温度	时间	循环数
热盖（105°C）	on	
95°C	3 min	1 循环
98°C	20 s	
60°C	15 s	X 循环
72°C	30 s	
72°C	10 min	1 循环
4°C	Hold	



注意：表中“X”处 cycle 数可参考本说明书表 6。如本例中“X”为 13。

3.3.4 反应结束后，瞬时离心将反应液收集至管底。

3.3.5 将 PCR 管置于磁力架上，静置 2-5 min 至液体澄清，用移液器吸取 100 μ L 上清液转移到新的 1.5 mL 离心管中。

3.4 杂交后 PCR 产物纯化

3.4.1 提前 30 min 取出 DNA Clean Beads 置于室温，使用前充分震荡混匀。



注意: DNA Clean Beads 来自 MGIEasy DNA 纯化磁珠试剂盒 (MGI, Cat. No. 1000005278); 或者可用 AMPure® XP (Agencourt, Cat. No. A63882) 代替。

3.4.2 吸取 100 μ L DNA Clean Beads 至步骤 3.3.5 的 100 μ L 杂交后 PCR 产物中，用移液器轻轻吹打至少 10 次至所有磁珠悬浮，最后一次应确保将吸头中所有液体及磁珠都打入离心管中。

3.4.3 室温孵育 5 min。

3.4.4 将离心管瞬时离心，置于磁力架，静置 2-5 min 至液体澄清，用移液器小心吸取上清并丢弃。

3.4.5 保持离心管置于磁力架上，加入 200 μ L 新鲜配制的 80%乙醇漂洗磁珠及管壁，静置 30 s 后小心吸取上清并丢弃。

3.4.6 重复步骤 3.4.5，尽量吸干管内液体，有少量残留在管壁时可将离心管瞬时离心，在磁力架上分离后，用小量程的移液器将管底液体吸干。

3.4.7 保持离心管置于磁力架上，打开离心管管盖，室温干燥，直至磁珠表面无反光、无开裂。

3.4.8 将离心管从磁力架上取下，加入 32 μ L TE Buffer 进行 DNA 洗脱，用移液器轻轻吹打至少 10 次至所有磁珠悬浮。

3.4.9 室温下孵育 5 min。

3.4.10 将离心管瞬时离心，置于磁力架上，静置 2-5 min 至液体澄清，用移液器吸取 30 μ L 上清液转移到新的 1.5 mL 离心管中。



停止点: PCR 纯化后产物可置-20°C 冰箱储存，待变性环化。



注意: 后续文库构建步骤可参照“MGIEasy 双分子标签通用 DNA 文库制备套装使用说明书”第三章“3.7 变性”步骤开始完成文库构建。

联系我们

生产企业：深圳华大智造科技有限公司

生产地址：深圳市盐田区北山路 146 号北山工业区 11 栋 2 楼，518083

客服电话：4000-966-988

技术支持：MGI-service@genomics.cn

网 址：www.mgitech.cn



官方微信