DNBSEQ 平台双 Barcode 文库 Pooling 指南

深圳华大智造科技股份有限公司

知识产权，属华大智造所有。

文档说明

本文档将向您提供华大智造 DNBSEQ MGIEasy 系列建库试剂盒所用到的各种双 barcode 产品的信息，便于您更好地安排设计各类双 barcode 接头产品 Pooling 实验方案。

本指引仅针对华大智造发布的 MGIEasy 系列建库试剂盒产品，对于其他第三方公司开发的 for DNBSEQ 测序平台的同类双 barcode 产品不做说明也不提供 Pooling 指导。

本指引中只针对各建库试剂盒等量 Pooling 测序进行规划设计，对于多个建库试剂盒来源的文库不等量 Pooling 的情况，请用户自行根据遵循碱基平衡通用规则（见表 1 与表 2）自行进行 Pooling 设计，并确认仅使用该指南中推荐的试剂盒文库进行混合。

本说明文档的版权归深圳华大智造科技有限公司所有，未经书面授权任何机构和个人不得以任何形式发布，复制，刊登，引用或披露。

您阅读或使用本文档的前提是您同意以上的所有免责条款，如不同意相应条款，请勿阅读或使用本文档。

碱基平衡

碱基平衡规则是 MGI 测序平台通用的双 barcode Pooling 基础规则，每当实际的 Pooling 方案不符合试剂盒推荐方案时（包括但不限于多文库不等数据量 Pooling，不同文库类型 Pooling），需在 Pooling 前对预期的 Pooling 后碱基平衡情况进行检验。

碱基平衡规则具体表述为："一条 lane 中每个测序位置均保证碱基含量不低于 12.5%，不高于 62.5%"。具体正确/不正确案例如表 1/表 2 所示。

表 1 正确成组的 barcodePooling 方案展示 （8 个正好为成组的 barcode 组合）

Sample 1	A	G	G	A	C	G	T	A	G	A
Sample 2	C	T	G	A	A	C	C	G	A	A
Sample 3	G	A	A	C	G	T	G	T	C	G
Sample 4	T	C	C	G	T	G	A	C	T	C
Sample 5	A	A	T	T	C	A	C	T	G	T
Sample 6	C	C	T	G	A	A	G	G	A	T
Sample 7	T	T	C	C	T	T	A	C	T	G
Sample 8	G	G	A	T	G	C	T	A	C	C
各碱基信号占比	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%	25.0%

表 2 不正确的的 9 barcode Pooling 方案展示（不含有成组的 barcode 组合）。

Sample 1	A	G	G	A	C	G	T	A	G	T
Sample 2	A	C	G	A	A	G	G	T	C	C
Sample 3	G	A	A	C	G	T	G	T	C	G
Sample 4	T	C	C	G	T	G	A	C	T	C
Sample 5	A	A	T	T	C	A	C	T	G	T
Sample 6	G	C	T	G	A	A	G	G	A	T
Sample 7	T	G	C	C	T	T	A	C	T	G
Sample 8	G	G	A	T	G	A	T	A	C	C
Sample 9	G	A	C	G	G	T	C	G	A	G
A 碱基信号占比	33.3%	33.3%	22.2%	22.2%	22.2%	33.3%	22.2%	22.2%	22.2%	0%
T 碱基信号占比	22.2%	0%	22.2%	22.2%	22.2%	33.3%	22.2%	33.3%	22.2%	33.3%
C 碱基信号占比	0%	33.3%	33.3%	22.2%	22.2%	0%	22.2%	22.2%	33.3%	33.3%
G 碱基信号占比	44.4%	33.3%	22.2%	33.3%	33.3%	33.3%	33.3%	22.2%	22.2%	33.3%

知识产权，属华大智造所有。

双端独立标签/双分子标签试剂盒 Pooling 指南

本章介绍双端独立标签/双分子标签试剂盒 Pooling 方法，涉及的销售产品见表 3:

表 3.双端独立标签/双分子标签系列试剂盒及套装信息

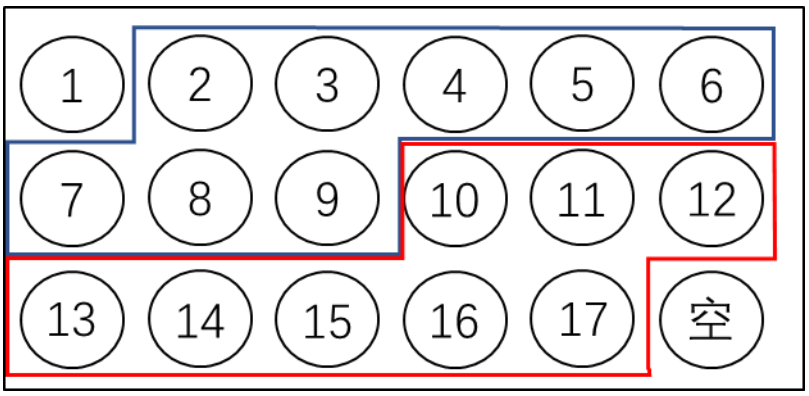
试剂盒名称	货号	Barcode 分类	规格
MGIEasy 双端独立标签引物接头试剂盒 A	1000022801	Set A	96 RXN
MGIEasy 双端独立标签引物接头试剂盒 B	1000022802	Set B	96 RXN
MGIEasy 双端独立标签通用文库制备试剂套装	1000022803	Set A	16 RXN
MGIEasy 双端独立标签通用文库制备试剂套装	1000022804	Set B	96 RXN
MGIEasy 双端独立标签通用文库制备试剂套装	1000022805	Set A+ Set B	192 RXN
MGIEasy 双分子标签通用文库制备试剂套装	1000018643	Set A	16 RXN
MGIEasy 双分子标签通用文库制备试剂套装	1000019376	Set A	96 RXN

⚠如实际 Pooling 方案中需要考虑将以上文库与其他未在表中列出的文库 Pooling，仅可选择 Barcode 分类为 Set B 的试剂盒文库进行 Pooling。在购买时需要注意。

对于 16RXN 的双标签管式试剂盒，8 管 Primer Mix 为一组 barcode，分别是 UDB PCR Primer Mix-57~ UDB PCR Primer Mix-64，UDB PCR Primer Mix-89~ UDB PCR Primer Mix-96。建议以组（8 个）为单位进行建库及 Pooling。

表 4.16 RXN 管式双标签试剂盒两组 barcode 孔位示意图

（第 1 组 barcode：蓝框，第 2 组 barcode：红框）



对于 96RXN/192RXN 规格的板式试剂盒，已在板位中每纵列 8 个为一组预设平衡碱基 barcode 组合。推荐按照表 5.双 barcode Pooling 规则进行 Pooling。本文对于板式试剂盒 8-13 样品 Pooling 情景下的 barcode 孔位选择做了示例（见表 6。双 barcode 8-13 样品 Pooling 示例）。

知识产权，属华大智造所有。

表 5.双 barcode Pooling 规则

Pooling 数	使用方法
8X	使用 X 列 barcode
8X+1	使用 X 列 barcode 使用其他任意 1 个 barcode
8X+2	使用 X 列 barcode 使用其他任意 2 个 barcode
8X+3	使用 X 列 barcode 使用其他任意 3 个 barcode
8X+4	使用 X 列 barcode 使用其他任意 4 个 barcode
8X+5	使用 X 列 barcode 使用其他任意 5 个 barcode
8X+6	使用 X 列 barcode 使用其他任意 6 个 barcode
8X+7	使用 X 列 barcode 使用其他任意 7 个 barcode

表 6.双 barcode8-13 样品 Pooling 示例

8 样品	9 样品		10 样品		11 样品		12 样品		13 样品		11 样品
1	9	17	25	33	41	49	57	65	73	81	89
2	10	18	26	34	42	50	58	66	74	82	90
3	11	19	27	35	43	51	59	67	75	83	91
4	12	20	28	36	44	52	60	68	76	84	92
5	13	21	29	37	45	53	61	69	77	85	93
6	14	22	30	38	46	54	62	70	78	86	94
7	15	23	31	39	47	55	63	71	79	87	95
8	16	24	32	40	48	56	64	72	80	88	96

知识产权，属华大智造所有。