

---

# MGI Easy

## 酶切 DNA 文库制备试剂套装 FAQ

---

货号：1000006987, 1000006988, 1000017572

试剂盒版本号：V2.1

FAQ 版本号：A1

## 第一章 概述篇

### 1, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 有几个型号? 分别包含的试剂盒有哪些?

答: 目前 MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 有 3 个不同规格, 详见下表。

试剂盒套装	子试剂盒名称	规格
MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 (货号: 1000006987)	MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂盒 (货号: 1000005254)	16 RXN
	MGIEasy DNA Adapters-16 (管式) 试剂盒 (货号: 1000005284)	16 x 10 $\mu$ L
	MGIEasy DNA 纯化磁珠试剂盒 (货号: 1000005278)	8 mL
	MGIEasy 环化模块 (货号: 1000005260)	16 RXN
MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 (货号: 1000006988)	MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂盒 (货号: 1000005256)	96 RXN
	MGIEasy DNA Adapters-96 (板式) 试剂盒 (货号: 1000005282)	96 x 10 $\mu$ L
	MGIEasy DNA 纯化磁珠试剂盒 (货号: 1000005279)	50 mL
	MGIEasy 环化模块 (货号: 1000005260)	16 RXN
MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 (货号: 1000017572)	MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂盒 (货号: 1000005256)	96 RXN
	MGIEasy DNA Adapters-96 (板式) 试剂盒 (货号: 1000005282)	96 x 10 $\mu$ L
	MGIEasy DNA 纯化磁珠试剂盒 (货号: 1000005279)	50 mL
	MGIEasy 环化模块 (货号: 1000017573)	96 RXN

### 2, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 适用于哪些样本类型?

答: MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 可适用于常规的人样本 (来源于唾液, 血液, 新鲜和冻存的组织)、植物、动物、真菌和宏基因组等样本的 gDNA 文库构建。

### 3, 建库的时候, 需要准备什么特殊的仪器设备吗?

答: 只需要准备 PCR 仪、移液枪和磁力架, 推荐使用 0.2 mL PCR 管适用的磁性较强的磁力架 (如: ALPAQUA, Part#A000400), 以达到更好的回收效果。

### 4, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 对于样品浓度和样本质量有什么要求?

答: MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 要求对投入打断的 DNA 的完整度及纯度要相对较好, DNA 完整或轻微降解,  $A_{260}/A_{280} = 1.8 \sim 2.0$ ,  $A_{260}/A_{230} > 2.0$ 。对于降解或者纯度不达标的 gDNA, 建议先取少部分样本进行打断测试, 摸索最优打断时间后, 再进行建库, 但仍有失败的风险。

### 5, 如果样本质量达不到要求, 是否可以建库?

答: 可以尝试风险建库, 建议客户根据实际情况调整打断参数、PCR 循环数, 第一次建库过程中多增加几个质控点, 例如: 打断后片段质检、双选后浓度质检、接头连接纯化后浓度质检等。

### 6, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 对于不同样本的起始量有什么推荐?

答: 不同样本的起始量推荐如下, 若样本质量偏低可适当提高投入量:

样本类型	起始量范围	推荐起始量	推荐浓度
复杂基因组	50-400 ng	200 ng	$\geq 15 \text{ ng}/\mu\text{L}$
简单基因组	5-400 ng	100 ng	$\geq 7.2 \text{ ng}/\mu\text{L}$
微生物基因组	5-400 ng	100 ng	$\geq 7.2 \text{ ng}/\mu\text{L}$
Meta 样本	5-400 ng	100 ng	$\geq 7.2 \text{ ng}/\mu\text{L}$
病原样本	5-100 ng	100 ng	$\geq 7.2 \text{ ng}/\mu\text{L}$

### 7, 如何定义复杂/简单基因组?

答: 一般来讲, 低复杂度的样本 (简单基因组): 基因组小于等于 20 Mb 左右, 例如微生物基因组、宏基因组、病毒基因组等; 高复杂度的样本 (复杂基因组): 基因组大于 20 Mb, 例如人、复杂多倍体植物。

### 8, 能不能用比说明书推荐的更高投入量进行建库?

答: MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 最高支持末端修复投入量为 100ng, 按照双选较高的效率 25% 计算, 可以允许 400ng 的 gDNA 打断后双选建库。若再增大投入量, 各步骤酶反应均可能有反应不充分的风险。

### 9, 建库过程中是否有建库操作安全中止节点? 每个安全中止节点产物可保存多久? 单链环文库是否可以运输等?

答: 具体安全中止点详见说明书。建库过程中的每次纯化步骤之后可做为安全暂存点, 纯化的 DNA 中间产物在  $-20^\circ\text{C}$  可至少保存 6 个月。最终的单链环文库在  $-20^\circ\text{C}$  可至少保存 3 个月。单链环文库可以使用干冰运输。

**10, 说明书中 PCR 仪的热盖推荐“ON”，具体调节多少℃呢？**

答:若是可调节热盖温度的 PCR 仪,请调节热盖温度至比最高反应温度高 5-10℃,如最高反应温度为 37℃,可调整热盖温度为 42℃-47℃之间。根据反应温度调节热盖温度能保证更好的数据表现。

若是不可调节热盖温度的 PCR 仪,我们推荐在 25℃及以下反应温度时,不盖或不扣紧 PCR 仪的热盖,其他温度条件可使用 105℃热盖。

**11, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1, 需要额外准备哪些试剂耗材？**

答: MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 包括 4 个试剂盒,涵盖建库试剂,环化试剂,接头,磁珠等酶切建库的主要试剂组成,无需用户额外从 MGI 采购其他试剂。建库过程中需要的其他常用试剂,请参考说明书中的《客户自备物料清单》。

**12, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 兼容的样本溶解 buffer 有哪些？**

答: MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 中的打断酶兼容性得到很大提高,兼容的 DNA 储存 buffer 有:水、EB、0.1×TE、buffer AE、TE 等常见提取溶解 buffer。建议样品溶于水、EB 或 low TE (0.1×TE) 中,若是其他 buffer,建议自行摸索最优的打断时间。

**13, 说明书中推荐 PE100 主带 250bp, PE150 主带 350bp, 若片段不在这个主带是否可以建库？**

答:说明书中推荐的主带是推荐的磁珠片段筛选后产生的主带,由于打断主带及个人操作有差异,片段大小 ±50bp 均可正常建库上机测序。另外较大的片段,例如 400bp 插入片段也可以测 PE100,但是 250bp 不建议测 PE150,会有较多的 overlap。

**14, 文库是否可以 SE 测序？**

答: MGI 建库试剂盒推荐 PE 测序是为了保证复杂基因组(如人)样品 WGS/捕获分析数据表现。文库本身可以进行 SE 测序,但是不代表同深度下能达到 PE 测序一样的数据表现。

**15, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 能不能不双选建库？**

答:可以实现打断后纯化后(不双选)建库。需要注意文库弥散度会影响测序质量。

**16, 是否支持扩增子产物打断建库？**

答:可实现扩增子建库,建议摸索打断条件,打断后 DNA 主带在目的区域即可。

**17, 是否可以用其他公司的磁珠替代 MGI 磁珠？**

答:可以使用 Ampure XP 替代 MGI Clean Beads。其他公司的磁珠建议测试后再大批使用。

**18, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 可适用于哪些测序平台？**

答: MGI 酶切 DNA 文库推荐使用 MGISEQ-2000, 进行 SE50、PE100 或者 PE150 测序;可兼容 BGISEQ-

500, DNBSEQ-T7 进行 PE100 测序。其他适配机型和读长正在测试中。

**19, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 和 MGIEasy 通用 DNA 文库制备试剂套装 V2.0 的差别是什么?**

答: 与 MGIEasy 通用 DNA 文库制备试剂套装 V2.0 相比, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 还包含 DNA 打断酶及配套打断缓冲液的试剂, 适用于无打断仪的实验室和/或基因组 DNA 起始的自动化建库。

## 第二章 实验篇

**20, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂盒中 Frag Buffer II 和 Frag Enzyme II 可支持几个打断反应?**

答: 按照说明书中推荐 SOP 中的试剂用量, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂盒( 16RXN, 货号: 1000005254 ) 中的 Frag Buffer II 和 Frag Enzyme II 的试剂量可用于 16 个手工打断反应和约 1-2 个多出的手工打断反应。MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂盒( 96RXN, 货号: 1000005256 ) 中的 Frag Buffer II 和 Frag Enzyme II 的试剂量可用于 96 个手工打断反应和约 20-24 个多出的手工打断反应, 但如果需使用该试剂盒( 96RXN, 货号: 1000005256 ) 在 MGISP-960 上进行自动化建库, 可以一次性运行 96 个打断反应, 并约可有 1-2 多出的手工打断反应所需试剂量。建议在大批量酶切建库前, 先合理地使用多出的试剂进行打断测试, 以摸索更优的打断条件。

**21, 酶切打断样本浓度低, 体积超过打断体系要求怎么办?**

答: ①可以尝试低起始量建库; ②可以等比例增大打断体系, 纯化/双选后仍然回溶 42  $\mu$ L TE, 取 40  $\mu$ L 进行末端修复, 但需要注意打断酶总量有限。

**22, 影响酶切打断的因素有什么?**

答: 升级后的 Fragmentation Enzyme II, 对于溶液中的 EDTA 的容忍度增加, 样品溶解于相同 pH 的 TE 溶液或 Tris 溶液对于打断后片段大小无明显差异, 但对于溶液的 pH 相对敏感, 如果 DNA 样本的溶解 buffer 不属于水、EB、0.1 $\times$ TE、buffer AE、TE 之类常规的溶解 buffer, 或溶解 buffer 的 PH 不在 6.8-8.5 之间, 可根据自身样品的溶解 buffer 进行 DNA 均一化后, 进行打断时间微调。微调方法建议按照主带每偏大/偏小 200bp 延长/缩短打断时间 2min 的方法进行。

此外, DNA 样本中若有蛋白质、酚类等杂质残留, 可能会影响酶切打断效果, 如样品杂质过多, 请使用磁珠纯化或酚氯仿提纯。

**23, 打断纯化/磁珠片段筛选后必须做定量吗?**

答: 必要时才做, 当打断纯化/磁珠片段筛选后的产量超过 100ng, 需要定量后, 取 100ng 进行随后的末端修复步骤。若预估纯化后产量不足 100ng, 可不做定量, 直接做末端修复。理论上单选的回收率为 50%-100%, 双选的回收率为 10%-25%。

**24, MGIEasy DNA Adapters 的浓度是多少?**

答: 10  $\mu$ M。

**25, Ligation Buffer 很粘稠, 如何保证 Buffer 是均匀的?**

答: Ligation Buffer 从冰箱取出室温溶解后, 请务必在涡旋仪上混匀 6 次以上, 每次 6 秒以上, 保证液体充分震荡混匀。也可盖紧管盖, 颠倒进行涡旋, 保证试剂均匀。在加入 DNA 样本后, 若反应液仍然较粘稠, 请务必在涡旋仪上混匀 6 次以上, 每次 6 秒以上, 保证液体充分震荡混匀。此步骤是否混匀关系到后续产量。

**26, PCR Primer Mix 的浓度是多少?**

答: 20  $\mu$ M

**27, 建库发现 PCR 产物浓度特别高(>100ng/ul)怎么办? 正常吗? 可以往下建库吗?**

答: ①重测浓度; ②使用 2100 等检测片段, 若片段符合预期, 可以继续建库。

**28, 若 PCR 产物浓度正常, 但单链环浓度检测不到, 怎么办?**

答: 环化过程出错, 建议增加阳性参照 (之前环化成功的 PCR 产物), 重新环化。

**29, PCR 产物只有 100ng 可以环化吗? 对后续测序数据会有影响吗?**

答: 100 ng 可以做环化, 环化效率不会有影响。但是影响数据表现的因素有很多, 若某次建库的 PCR 产量明显异于同流程操作的经验值, 可能是建库过程中有异常, 建议寻找原因, 重新建库。

**30, 单链环产量非常高 (>4 ng/ul) 怎么办?**

答: 环化效率一般不高于 30%。这种情况下, 先重测 PCR 产物机单链环浓度, 必须同管配置标曲。若重新检测的结果仍然太高, 可能的原因: ①PCR 产物未进行变性; ②消化不彻底。建议重新环化。

**31, DNB 浓度低于上机要求怎么办?**

答: 建议加大投入量 make DNB, 若坚持, 浓度  $\geq 6$  ng/ $\mu$ L 可以尝试风险上机。

**32, 做 pooling 测序推荐哪一步进行 pooling 操作?**

答: 推荐在“PCR 产物质检”或“酶切消化产物质检”之后进行 pooling 操作。不推荐在“连接产物纯化”之后进行 pooling 操作, 以避免未纯化干净的少量接头残留物参与下一步反应, 造成样本间的轻微污染。

**33, 新版本试剂盒对测序质量是否有影响?**

答: 升级至新版本后, 如果发生了测序前 1-2bp unfilter Q30 有所下降, 而后又回升的现象的话, 是正常的现象。该现象是由于前两个 bp 测序时, 测序信号仍处在抬升阶段导致, 对后续的数据分析没有影响。

### 34, 为什么拆分率低?

答: 一般拆分成功率应大于 98%, 若 barcode 的碱基不平衡, 会影响拆分率。建议按照推荐的 barcode 组合进行 pooling, 以免影响拆分率。

### 35, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 是否可以兼容自动化?

答: 可以兼容 MGISP-100 和 MGISP-960 系列自动化建库仪。其中:

MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 (16RXN (含 16RXN 环化), 货号: 1000006987) 可在 MGISP-100 上实现 16 个文库构建 (打断-环化), 无需增加购买环化模块。

MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 (96RXN (含 96RXN 环化), 货号: 1000017572) 可在 MGISP-960 上实现 96 个文库构建 (打断-环化), 无需增加购买环化模块。

MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 (96RXN (含 16RXN 环化), 货号: 1000006988) 适合在 MGISP-960 上构建 96 个 PCR 产物, 需另外配合使用手动或者 MGISP-100 对 PCR 产物做 pooling 后再进行环化 (16RXN)。

产品	规格*	订购货号	版本号	对应中文版使用说明书的版本号#	对应英文版使用说明书的版本号#	手工操作可建库数量	MGISP-100 上: 单次建库数量×可运行次数	MGISP-960 上: 单次建库数量×可运行次数
MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装	16RXN (含 16RXN 环化)	1000006987	V2.1	B4	B3	16RXN	16RXN×1 次	/
	96RXN (含 16RXN 环化)	1000006988	V2.1	B4	B3	最多可完成 96RXN **	/	最多可完成 96RXN×1 次 **
	96RXN (含 96RXN 环化)	1000017572	V2.1	B4	B3	96RXN	/	96RXN×1 次

\*: 规格=对应手工操作可建库数量。

#, 各版本说明书可在智造官网 (<https://www.mgi-tech.com/download/files/>) 下载, 或向您当地的 MGI 客户经理或技术支持 FAS 获取。

\*\* 该对应试剂套装中含 96RXN 建库试剂盒+96RXN 接头+50ml 纯化磁珠+16RXN 环化, 需要在环化前根据环化 RXN 数、建库样本数对文库 PCR 产物进行适当的 pooling, 最多可完成 96RXN 标准建库。

### 36, WGS 酶切文库的技术优势是什么?

- ✚ 酶切打断条带集中, 无明显偏好
- ✚ 流程简单, 易于自动化
- ✚ 覆盖均一性好
- ✚ 更低的 GC Bias
- ✚ 更好的 InDel 检出率

### 37, MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装 V2.1 可推荐用于哪些测序应用?

答: 适用于人重测序、WES 测序、动植物测序、病原测序、Meta 基因组测序等科研和应用。尤其适合想要搭配全自动化流程来解决建库的繁琐性的需求, 实现真正的自动化建库。