

# ATOplex 平台定制常见问题

## 什么是目标靶向测序

靶向测序是选择性的对感兴趣目标基因区域进行测序的方法，能够对已知或新发突变进行检测。常用的靶向测序方法分为两种：探针捕获和多重PCR技术，而ATOplex采用多重PCR的技术完成对感兴趣目标区域的富集。

## ATOplex能做什么

ATOplex平台针对靶向基因组测序设计一个基于多重PCR的靶向建库试剂盒，包含一套多重PCR引物对和对应的扩增体系。该试剂能够特异性的扩增目标基因并完成二代测序文库的制备，能检测点突变、小的插入缺失、拷贝数变异、STR和固定fusion，适用于分子育种、遗传病研究、公共卫生等多种方向的应用。

## ATOplex定制试剂盒包含什么

主要包含两部分，1 目标基因引物池，2 通用扩增试剂盒。

## ATOplex产品包含分析软件吗

目前ATOplex 只定制扩增的引物池和配套扩增试剂盒，不提供后续的分析软件。

## ATOplex试剂盒检测LOD

受限于二代测序的测序准确性，ATOplex 突变频率检测的 LOD 为 3-5%。<sup>[1]</sup>

## ATOplex定制化试剂盒怎么订购

首先在ATOplex Desinger (atoplex.mgi-tech.com) 网站上进行引物设计，得到的引物设计报告中对应的编号和重数，通过编号和重数进行下单。

引物设计 → 设计报告 → 下单 → 生产 → 交付

## 引物设计-常规设计

可以选择 hg19 和 hg37 基因组，提供基因组名称、基因位置信息、rs 号进行对应区域的引物设计，引物设计重数不超过 2000 重，超过 2000 重请联系技术团队 MGI\_ATOplex@MGI-tech.com。

## 引物设计-自定义设计

通过上传参考基因组实现自定义设计，自定义基因组小于(4Mb)，超过 4Mb 请将需求发送给我们技术团队：

MGI\_ATOplex@MGI-tech.com

## 技术路线

ATOplex 采用两步 PCR 进行 DNB 文库制备，包含四个独立的操作步骤：

特异性 PCR → 磁珠纯化 → 通用 PCR → 磁珠纯化

## 实验准备

试剂盒包含从核酸到双链线性文库制备的所有试剂，客户还需要订购相应的环化试剂和测序试剂。

## 实验室要求

我们采用两步 PCR 的方式进行文库制备，需要严格进行实验室分区，一共需要三个实验区域(前、中、后三个区域)，实验是分区不严格会造成样本污染的风险。

逆转录  
1<sup>st</sup> PCR 配置

1<sup>st</sup> PCR 产物纯化  
2<sup>nd</sup> PCR 配置

2<sup>nd</sup> PCR  
产物纯化

## 支持多少样本混合测序

最大支持 4608 样本混合测序。

## 样本推荐投入量

基于人领域的靶向捕获，DNA、RNA 推荐 10 ng。投入量根据不同应用领域进行调整，在某些领域，最低的模板投入可低至 10 个拷贝基因组。

## 测序读长和测序数据量

对于 FFPE 样本，推荐扩增子设计为 100-200 bp，推荐读长 PE100；对于 cfDNA，推荐扩增子设计为 60-120 bp，推荐读长 PE100；对于常规基因组 DNA，推荐读长 100-300 bp，推荐读长 PE100 或者 PE150。