

MGICare

染色体拷贝数变异检测试剂套装使用说明书

货号：1000012919（96 RXN）

试剂盒版本号：V1.0

说明书版本号：6.0

版本历史

| 说明书版本 | 试剂盒版本 | 修订日期 | 修订内容摘要 |
|-------|-------|--------------|---|
| 6.0 | V1.0 | 2024年 3月 | <ul style="list-style-type: none"> 变更生产商信息 |
| 5.0 | V1.0 | 2022年 3月 | <ul style="list-style-type: none"> 更新公司 LOGO |
| A3 | V1.0 | 2021年 1月 | <ul style="list-style-type: none"> 更新公司联系信息 |
| A2 | V1.0 | 2020年 7月 | <ul style="list-style-type: none"> 变更公司名称 |
| A1 | V1.0 | 2019年 12月 | <ul style="list-style-type: none"> 表 1 组分“阳性对照”更名为“CNV 对照品-1”；组分“阴性对照”更名为“CNV 对照品-2”； 说明书更换新风格。 |
| A0 | V1.0 | 2019年 4月 | <ul style="list-style-type: none"> 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：<https://www.mgi-tech.com/download/files>。

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 适配测序平台..... | 1 |
| 1.4 试剂盒组分..... | 1 |
| 1.5 试剂盒储存条件及有效期..... | 2 |
| 1.6 客户自备仪器物料清单..... | 3 |
| 1.7 注意事项..... | 4 |
| 第二章 样本要求及处理..... | 5 |
| 2.1 样本要求..... | 5 |
| 第三章 文库构建标准流程..... | 6 |
| 3.1 打断&末端修复..... | 6 |
| 3.2 接头连接..... | 7 |
| 3.3 连接产物纯化..... | 8 |
| 3.4 PCR 扩增..... | 9 |
| 3.5 PCR 产物纯化..... | 10 |
| 3.6 PCR 产物质检..... | 11 |
| 3.7 变性..... | 11 |
| 3.8 单链环化..... | 12 |
| 第四章 测序..... | 13 |
| 附录..... | 14 |
| 附录 A 关于标签接头 (01-96) 使用..... | 14 |
| 附录 B 关于磁珠及纯化..... | 16 |

第一章 产品信息

1.1 产品描述

“MGICare染色体拷贝数变异检测试剂套装”是针对华大智造（MGI）测序平台量身打造的用于检测染色体异常的文库构建试剂盒。本试剂套装可对人流产组织、羊水、脐血、外周血、绒毛等样本的DNA进行操作，制备兼容华大智造测序平台矩阵式纳米芯片的单链环状DNA文库，用于高通量测序并得到数据以进行染色体拷贝数变异的分析。试剂盒中提供的所有试剂都经过严格的质量控制和功能验证，最大程度上保证了文库构建的稳定性和重复性。

1.2 适用范围

本试剂套装适用于人流产组织、羊水、脐血、外周血、绒毛等样本的DNA。

1.3 适配测序平台

构建的文库可使用BGISEQ-500RS、BGISEQ-50RS、MGISEQ-2000RS、MGISEQ-200RS进行测序。

1.4 试剂盒组分

MGICare染色体拷贝数变异检测试剂套装包含MGICare染色体拷贝数变异检测试剂盒和MGIEasy快速环化模块。其中MGICare染色体拷贝数变异检测试剂盒规格为96 RXN，由3个独立包装组成。MGIEasy快速环化模块规格为16 RXN。套装中包含的试剂盒、货号、组分信息如下表：

表 1 MGICare 染色体拷贝数变异检测试剂套装 (96 RXN) (货号: 1000012919)

| 试剂盒种类 | 组分信息 | 管盖颜色 | 规格及数量 |
|---|------------------|------|-----------------------------|
| MGICare 染色体拷贝数变异 检测试剂盒 (Box 1) 货号: 1000005290 | 打断修复缓冲液 | 无色 | 720 μ L/支 \times 1 支 |
| | 打断修复酶 | 无色 | 240 μ L/支 \times 1 支 |
| | 连接缓冲液 | 红色 | 1584 μ L/支 \times 2 支 |
| | 连接酶 | 红色 | 192 μ L/支 \times 1 支 |
| | PCR 反应液 | 蓝色 | 1200 μ L/支 \times 2 支 |
| | PCR 引物 | 蓝色 | 192 μ L/支 \times 1 支 |
| | CNV 对照品-1 | 黄色 | 10 μ L/支 \times 1 支 |
| | CNV 对照品-2 | 黄色 | 10 μ L/支 \times 1 支 |
| MGICare 染色体拷贝数变异 检测试剂盒 (Box 2) 货号: 1000005290 | 标签接头 (01-96) | / | 18 μ L/孔 \times 96 孔 |
| MGICare 染色体拷贝数变异 检测试剂盒 (Box 3) 货号: 1000005290 | 磁珠 | 白色 | 4320 μ L/支 \times 2 支 |
| | 洗脱缓冲液 | 白色 | 5088 μ L/支 \times 1 支 |
| | 分子级水 | 白色 | 1920 μ L/支 \times 1 支 |
| MGIEasy 快速环化模块 货号: 1000005258 | Splint Buffer | 紫色 | 186 μ L/支 \times 1 支 |
| | DNA Rapid Ligase | 紫色 | 8 μ L/支 \times 1 支 |

1.5 试剂盒储存条件及有效期

MGICare 染色体拷贝数变异检测试剂盒 (Box 1)

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

MGICare 染色体拷贝数变异检测试剂盒 (Box 2)

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

MGICare 染色体拷贝数变异检测试剂盒 (Box 3)

- 储存温度: 2°C ~ 8°C
- 有效期: 见试剂盒标签
- 运输条件: 冰袋运输

MGIEasy快速环化模块

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

*干冰运输, 请注意检查收到产品时是否有干冰剩余。

*当运输条件、储存条件及使用方式都正确时, 所有组分在有效期内均能保持完整活性。

1.6 客户自备仪器物料清单

表 2 客户自备仪器物料清单

| | |
|----|---|
| 仪器 | 漩涡混匀仪 小型离心机 移液器 PCR 仪 磁力架 (ThermoFisher, Cat. No. 12321D) Qubit® 3.0 荧光定量仪 (ThermoFisher, Cat. No. Q33216) Agilent 2100 Bioanalyze (Agilent Technologies, Cat. No. G2939AA) |
| 试剂 | Nuclease free water (NF water) (Ambion, Cat. No. AM9937) 无水乙醇, 100% 乙醇 (分析纯) Qubit® dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen, Cat. No. Q32854) DNA 1000 Kit (Agilent, Cat. No. 5067-1504) |
| 耗材 | 移液器吸头 1.5 mL 离心管 (Axygen, Cat. No. MCT-150-C) 0.2 mL PCR 管 (Axygen, Cat. No. PCR-02-C) 或 96 孔板 (Axygen, Cat. No. PCR-96M2-HS-C) Qubit® Assay Tubes (Invitrogen, Cat. No. Q32856) 或 0.5mL 透明薄壁管 (Axygen, Cat. No. PCR-05-C) |

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。
- 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；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。
- 应避免皮肤和眼睛直接接触样本及试剂，切勿吞咽样本及试剂，一旦发生意外请立即用大量清水冲洗并及时就医。
- 所有样本和各种废弃物均应按相关法规规定处理。
- 若您有其他疑问，请联系技术支持：MGI-service@mgi-tech.com

第二章 样本要求及处理

2.1 样本要求

本试剂盒适用于人流产组织、羊水、脐血、外周血、绒毛等样本提取的基因组DNA。推荐使用：

- DNA 总量: 50 ng 基因组 DNA;
- DNA 浓度: ≥ 2.5 ng/ μ L;
- DNA 纯度: $OD_{260/280}=1.8\sim 2.0$;
- DNA 质量: 完整或者轻微降解的基因组 DNA 进行打断。

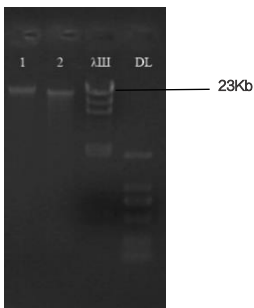


图 1 1%琼脂糖凝胶电泳图

注：样本 1 是高质量基因组 DNA；样本 2 是轻微降解基因组 DNA。



注意：建议采用完整度良好的基因组 DNA(1%琼脂糖凝胶电泳图中 DNA 主带完整且大于 23 Kb 的样品判断为完整基因组 DNA 样本)。采用轻微降解的基因组 DNA 也可进行风险建库，但高质量的基因组 DNA 能获得更高的实验成功率和更可靠的测序数据。由于 DNA 中残留的蛋白、盐或其他污染物会降低试剂盒中酶的活性，建议采用高纯度基因组 DNA。

第三章 文库构建标准流程

3.1 打断&末端修复

实验前准备:

- a) 从-20°C取出打断修复缓冲液，在室温解冻后，震荡3次，每次15s充分混匀，瞬时离心后置于冰上待用。
- b) 从-20°C取出打断修复酶，上下颠倒数次混匀，瞬时离心后立即置于冰上待用
- 3.1.1 根据样本、CNV对照品-1和CNV对照品-2浓度，取50ng样本至新的0.2mL PCR管，用分子级水补充至总体积20μL，充分混匀后瞬时离心。



注意：取样体积(μL) = 50 ng / DNA的浓度 (ng/μL)，CNV对照品-1和CNV对照品-2 DNA的浓度均为10 ng/μL。



CNV对照品-1拷贝数变异检测结果为21染色体三体；CNV对照品-2拷贝数变异检测结果为1M以上CNV阴性。

- 3.1.2 在冰上配制打断修复反应混合液（见表3）:

表3 打断修复反应混合液的配制

| 组分 | 单个反应体积 |
|---------|--------|
| 打断修复缓冲液 | 7.5 μL |
| 打断修复酶 | 2.5 μL |
| 总体积 | 10 μL |

- 3.1.3 用移液器吸取10μL配制好的打断修复反应混合液加入步骤3.1.1的PCR管中，充分混匀后，瞬时离心将反应液收集至管底。
- 3.1.4 将步骤3.1.3所述PCR管置于PCR仪上，按照表4中的条件进行反应:

表4 打断修复反应条件

| 温度 | 时间 |
|------|--------|
| 热盖 | On |
| 37°C | 15 min |
| 65°C | 15 min |
| 4°C | Hold |

- 3.1.5 反应完成后，瞬时离心将反应液收集至管底。



注意：不建议在此处停止，请继续进行步骤3.2。

3.2 接头连接



注意：操作前请仔细阅读附录 A。

实验前准备：

a) 从-20°C 取出连接缓冲液和标签接头（01-96），在室温解冻后，震荡 3 次，每次 15s 充分混匀，瞬时离心后置于冰上待用。

b) 从-20°C 取出连接酶，上下颠倒数次混匀，瞬时离心后立即置于冰上待用

3.2.1 参照附录 A，在步骤 3.1.5 的 PCR 管中加入 15 μL 对应的标签接头（01-96），充分混匀后，瞬时离心将反应液收集至管底。

3.2.2 在冰上配制连接反应混合液（见表 5）：

表 5 连接反应混合液的配制

| 组分 | 单个反应体积 |
|-------|------------------|
| 连接缓冲液 | 33 μL |
| 连接酶 | 2 μL |
| 总体积 | 35 μL |

3.2.3 用移液器缓慢吸取 35 μL 配制好的连接反应混合液加入步骤 3.2.1 的 PCR 管中，充分混匀后，瞬时离心将反应液收集至管底。

3.2.4 将步骤 3.2.3 所述 PCR 管置于 PCR 仪上，按照表 6 中的条件进行反应：

表 6 标签接头连接反应条件

| 温度 | 时间 |
|------|--------|
| 热盖 | On |
| 23°C | 20 min |
| 4°C | Hold |

3.2.5 反应完成后，瞬时离心将反应液收集至管底。

3.2.6 全部转移到新的 1.5 mL 离心管中。



注意：不建议在此处停止，请继续进行步骤 3.3。

3.3 连接产物纯化



注意：操作前请仔细阅读附录 B 关于磁珠及纯化。

- 3.3.1 提前 30 min 取出磁珠置于室温，使用前充分震荡混匀。
- 3.3.2 用移液器吸取 40 μL 磁珠至步骤 3.2.6 中的接头连接产物中，并轻轻吹打至少 10 次至完全混匀，最后一次应确保将吸头中所有液体及磁珠都打入管中。
- 3.3.3 室温孵育 5 min。
- 3.3.4 将离心管瞬时离心后置于磁力架，静置 2–5 min 至液体澄清，用移液器小心吸取上清并丢弃。
- 3.3.5 保持离心管置于磁力架上，加入 200 μL 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。
- 3.3.6 重复步骤 3.3.5，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。
- 3.3.7 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。
- 3.3.8 将离心管从磁力架上取下，加入 25 μL 洗脱缓冲液进行 DNA 洗脱，用移液器轻轻吹打至少 10 次至完全混匀，最后一次应确保将吸头中所有液体及磁珠都打入管中。
- 3.3.9 室温下孵育 5 min。
- 3.3.10 将离心管瞬时离心后置于磁力架上，静置 2–5 min 至液体澄清，将 23 μL 上清液转移到新的 0.2 mL PCR 管中。



停止点：连接产物纯化后，可置-20°C 冰箱储存，不超过 24 h。

3.4 PCR 扩增

实验前准备:

- a) 从 -20°C 取出 PCR 引物, 在室温解冻后, 震荡 3 次, 每次 15s 充分混匀, 瞬时离心后置于冰上待用。
- b) 从 -20°C 取出 PCR 反应液, 在冰上解冻后, 震荡 3 次, 每次 15s 充分混匀, 瞬时离心后立即置于冰上待用。

3.4.1 在冰上配制 PCR 混合液 (见表 7):

表 7 PCR 混合液的配制

| 组分 | 单个反应体积 |
|---------|------------------|
| PCR 反应液 | 25 μL |
| PCR 引物 | 2 μL |
| Total | 27 μL |

3.4.2 用移液器吸取 27 μL 配制好的 PCR 混合液加入步骤 3.3.10 的 PCR 管中, 充分混匀后, 瞬时离心将反应液收集至管底。

3.4.3 将步骤 3.4.2 所述 PCR 管置于 PCR 仪上, 按照表 8 的条件进行 PCR 反应:

表 8 PCR 反应条件

| 温度 | 时间 | 循环数 |
|-----------------------|-------|------|
| 热盖 | on | |
| 95 $^{\circ}\text{C}$ | 3 min | 1 循环 |
| 98 $^{\circ}\text{C}$ | 15 s | |
| 56 $^{\circ}\text{C}$ | 15 s | 7 循环 |
| 72 $^{\circ}\text{C}$ | 30 s | |
| 72 $^{\circ}\text{C}$ | 5 min | 1 循环 |
| 4 $^{\circ}\text{C}$ | Hold | |

3.4.4 瞬时离心将反应液收集至管底。

3.4.5 吸取全部反应液转移到新的 1.5 mL 离心管中。

3.5 PCR 产物纯化



注意：操作前请仔细阅读附录 B。

- 3.5.1 提前 30 min 取出磁珠置于室温，使用前充分震荡混匀。
- 3.5.2 吸取 35 μL 磁珠至步骤 3.4.5 的 50 μL PCR 产物中，用移液器轻轻吹打至少 10 次至完全混匀，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。
- 3.5.3 室温孵育 5 min。
- 3.5.4 将离心管瞬时离心后置于磁力架，静置 2~5 min 至液体澄清，用移液器小心吸取上清至新的 1.5 mL 离心管中。



注意：此步保留上清，丢弃磁珠。

- 3.5.5 吸取 15 μL 磁珠至步骤 3.5.4 的上清液中，用移液器轻轻吹打至少 10 次至完全混匀，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。
- 3.5.6 室温孵育 5 min。
- 3.5.7 瞬时离心，将离心管置于磁力架，静置 2~5 min 至液体澄清，用移液器小心吸取上清并丢弃。
- 3.5.8 保持离心管置于磁力架上，加入 200 μL 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。
- 3.5.9 重复步骤 3.5.8，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。
- 3.5.10 保持离心管固定于磁力架上，打开离心管管盖，室温干燥，直至磁珠表面无反光、无开裂。
- 3.5.11 将离心管从磁力架上取下，加入 25 μL 洗脱缓冲液进行 DNA 洗脱，用移液器轻轻吹打至少 10 次至完全混匀，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。
- 3.5.12 室温下孵育 5 min。
- 3.5.13 瞬时离心，将离心管置于磁力架上，静置 2~5 min 至液体澄清，将 23 μL 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。

3.6 PCR 产物质检

3.6.1 使用 Qubi[®] dsDNA HS Assay Kit 或其他同等功能的双链 DNA 荧光定量试剂盒，按照定量试剂盒的操作说明对 PCR 纯化后产物进行定量。要求最终 PCR 产物文库浓度 ≥ 2 ng/ μ L。PCR 产物纯化后，每批次实验需挑选 1 到 2 个文库用 Agilent 2100 Bioanalyzer 检测 PCR 产物的长度分布范围。要求文库 DNA 片段主带在 200-300 bp 左右，无其他污染。

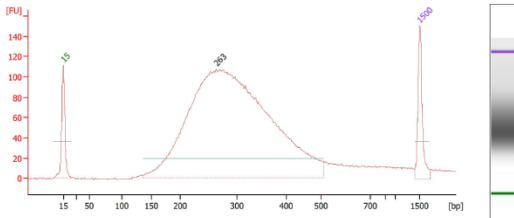


图2 标准流程 PCR 纯化后产物 Agilent 2100 Bioanalyzer 检测

3.6.2 如需将多个样本混合测序，建议根据标签接头说明书使用规则设计混合方案（见附录 A），在定量后进行不同标签接头样本等量混合，混合后总量为 170 ng，用洗脱缓冲液补充至总体积 48 μ L。

3.6.3 混合产物可在 -20 $^{\circ}$ C 冰箱储存或进行下一步环化反应。推荐使用《MGIEasy 快速环化模块》（货号：1000005258）进行环化反应，制备适用于华大智造高通量测序平台的单链环状 DNA 文库，具体环化操作见步骤 3.7-3.8。

3.7 变性

3.7.1 根据 PCR 产物的主片段分布，取 170 ng PCR 产物至新的 0.2 mL PCR 管中，用洗脱缓冲液补充至总体积 48 μ L。

3.7.2 将步骤 3.7.1 所述 PCR 管置于 PCR 仪上，按照表 9 的条件进行反应：

表 9 变性反应条件

| 温度 | 时间 |
|-----------------|-------|
| 热盖 | On |
| 95 $^{\circ}$ C | 3 min |

3.7.3 反应结束后，立即将 PCR 管转移到冰上，静置 2 min 后瞬离心。

3.8 单链环化

3.8.1 在冰上配制单链环化反应液（见表 10）：

表 10 单链环化反应液的配制

| 组分 | 单个反应体积 |
|------------------|--------------------|
| Splint Buffer | 11.6 μL |
| DNA Rapid Ligase | 0.5 μL |
| Total | 12.1 μL |

3.8.2 吸取 12.1 μL 配制好的单链环化反应液加入步骤 3.7.3 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。

3.8.3 将 PCR 管置于 PCR 仪上，按照表 11 的条件进行反应：

表 11 单链环化反应条件

| 温度 | 时间 |
|------|--------|
| 热盖 | On |
| 37°C | 30 min |
| 4°C | Hold |

3.8.4 反应结束后，瞬时离心将反应液收集至管底。

✓ **停止点：环化反应后产物，可置-20°C 冰箱储存。**

第四章 测序

取20 μL 步骤3.8.4环化产物，选择合适的测序平台和测序类型进行上机：

- BGISEQ-500RS 基因测序仪: SE50;
- MGISEQ-2000RS 基因测序仪: SE50;
- MGISEQ-200RS 基因测序仪: SE50;

测序前请仔细阅读对应的说明书，并严格按照说明书的内容进行操作。

附录

附录 A 关于标签接头 (01-96) 使用

- 试剂套装提供了 96 个标签接头，为满足大量样本批量化建库、多样本混合测序而研发，基于碱基平衡的设计原则，为保证最佳效果，使用时请仔细阅读附录 A-1 的使用规则。编号一致的标签接头，Barcode 碱基序列相同，不能在同一条 lane 中测序。
- 标签接头为双链标签接头，请勿将其置于 30℃ 以上的温度，否则易发生解链，影响使用效果。
- 使用前必须先离心将液体聚集于管底，轻柔地揭开管盖，防止液体飞溅，避免交叉污染；使用时需用移液器吸打混匀液体；使用完毕后需及时盖好管盖。

A-1 标签接头使用规则

基于碱基平衡的设计原则，在使用时需将标签接头成组使用，试剂盒中包含的标签接头具备如下的分组规则：

4 个标签接头成组：01-04、05-08、09-12、13-16，共计 4 组；

8 个标签接头成组：17-24、25-32、33-40、41-48、49-56、57-64、65-72、73-80、81-88、89-96，共计 10 组。

当每个样本数据量要求相同时，不同样本数目可参考如下表所示的推荐 Barcode 组合方案：

表 12 标签接头使用规则

| 样本数/lane | 使用方法（举例） |
|----------|--|
| 1 | 需至少使用 1 组标签接头： 1、加一组 4 个标签接头（如 01-04），将 4 个标签接头取等体积混合后加入样本中 2、加一组 8 个标签接头（如 17-24），将 8 个标签接头取等体积混合后加入样本中 |
| 2 | 需至少使用 1 组标签接头： 1、加一组 4 个标签接头（如 01-04），每个编号标签接头取等体积，两两组合，混合成 2 份等体积混合，分别加入 2 个样本中（如 01-04，将 01 和 02 等体积混合后加入样本 1 中，将 03 和 04 等体积混合后加入样本 2 中） 2、加一组 8 个标签接头（如 17-24），每个编号标签接头取等体积，每 4 个编号标签接头混合成 1 份，形成 2 份等体积，分别加入 2 个样本中（如将 17-20 等体积混合后加入样本 1 中，将 21-24 等体积混合后加入样本 2 中） |
| 3 | 需至少使用 2 组标签接头： 样本 1、2 采用上述（2 样本数/lane）方法加标签接头，样本 3 采用上述（1 样本数/lane）方法加标签接头，注意样本 1、2 与样本 3 需使用不同组别的标签接头 |

| 样本数/lane | 使用方法（举例） |
|--|--|
| 4 | <p>需至少使用 1 组标签接头：</p> <p>1、加一组 4 标签接头（如 01-04），每个编号标签接头取等体积，分别加入 4 个样本中（如 01-04，将 01、02、03、04 分别依次加样本 1、2、3、4 中）</p> <p>或 2、加一组 8 标签接头（如 17-24），每个编号标签接头取等体积，两两组合，混合成 4 份等体积混合，分别加入 4 个样本中（如 将 17-18、19-20、21-22、23-24 分别等体积混合成 4 份后，分别依次加入样本 1、2、3、4 中）</p> |
| 5 | <p>需至少使用 2 组标签接头：</p> <p>样本 1-4 采用上述（4 样本数/lane）方法加标签接头，样本 5 采用上述（1 样本数/lane）方法加标签接头，注意样本 1-4 与样本 5 需使用不同组别的标签接头</p> |
| 6 | <p>需至少使用 2 组标签接头：</p> <p>样本 1-4 采用上述（4 样本数/lane）方法加一组标签接头，样本 5-6 采用上述（2 样本数/lane）方法加一组标签接头，注意样本 1-4 与样本 5-6 需使用不同组别的标签接头</p> |
| 7 | <p>需使用 3 组标签接头，分三步操作：</p> <p>1）样本 1-4 采用上述（4 样本数/lane）方法加一组标签接头，</p> <p>2）样本 5-6 采用上述（2 样本数/lane）方法加一组标签接头，</p> <p>3）样本 7，使用一组标签接头，可以加该组内一个单标签接头，或者加组内所有编号标签接头取等体积混合成的标签接头</p> <p>注意样本 1-4、样本 5-6、样本 7 需使用不同组别的标签接头</p> |
| 8 | <p>需至少使用 1 组标签接头：</p> <p>1、加一组 8 标签接头（如 17-24），每个编号标签接头取等体积，每个样本加 1 个标签接头</p> <p>或 2、选取两组 4 标签接头（01-04 和 13-16），每个编号标签接头取等体积，每个样本加 1 个标签接头</p> |
| 8n+X (1≤n≤5, X=1-8, 总 计 9-96 个) | <p>样本 8n+X，每 8 个样本一组，采用上述（8 样本数/lane）方法加标签接头，未成组样本根据 X 的数值，各加入一个单标签接头，或者采用上述对应的 1-8 样本数/lane 方法加标签接头，并注意按照对应要求加不同组别的标签接头</p> <p>注意：上述每个样本间需使用不同的标签接头</p> |

附录 B 关于磁珠及纯化

磁珠使用前注意事项

- 磁珠使用前，提前 30 min 从 4°C 取出，涡旋震荡混匀置于室温，使其平衡至室温，有利于保证回收效率。
- 磁珠每次使用前，需振荡或用移液器上下吹打，确保充分混匀。

磁珠操作注意事项

- 若待纯化的样本体积因温度孵育导致蒸发，应用洗脱缓冲液补齐体积，再用推荐磁珠用量进行纯化，以保证乘数正确，条带正确。
- 样本与磁珠充分混匀后置于磁力架上进行分离时，请于溶液彻底澄清后再吸取上清，一般需要 2-5 min。但由于磁力架吸力不同等原因，推荐分离时间有时可能需要延长，以液体彻底澄清为准。
- 磁珠与液体分离时，注意吸头不可碰到磁珠，最后可余留 2-3 μL 液体，避免吸到磁珠。若不慎吸到磁珠，可将磁珠与液体全部打回管内，再次分离后再吸取上清。
- 磁珠用乙醇漂洗应使用新鲜配制并平衡至室温的 80%乙醇。漂洗过程中 1.5 mL 离心管应始终置于磁力架中，请勿扰动磁珠。
- 第二次乙醇漂洗应尽量吸干管底液体，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，用小量程的移液器把管中液体吸干。
- 两次乙醇漂洗后，应在室温下充分干燥磁珠。干燥不充分（磁珠表面反光）容易造成无水乙醇残留影响后续反应，过分干燥（磁珠开裂）又会降低纯化得率。通常情况下，室温干燥需要 5-10 min，但由于室内温度和湿度的差异，干燥时间可能会不同，应随时观察，磁珠表面无反光，即可进行产物洗脱，可用试剂盒附带的洗脱缓冲液进行洗脱。
- 洗脱后吸取上清时，切忌触碰磁珠，若吸到磁珠可能会影响后续的纯化反应，所以，洗脱体积应该比最终吸取上清的体积多 2 μL 。
- 在 1.5 mL 磁力架上开关管盖时应小心，避免剧烈震动导致磁珠或液体弹出，建议用手指固定住离心管中下段，然后开盖。

联系我们

生产企业：深圳华大智造生物电子科技有限公司

生产地址：深圳市盐田区盐田街道沿港社区北山道 146 号北山工业区 11 栋 2 楼

客服电话：4000-688-114

技术支持：MGI-service@mgi-tech.com

网 址：www.mgi-tech.com



官方微信