

准备试剂

准备样本

装填样本制备卡

使用 DNBelab-D4RS 制备 DNB

使用 DNBSEQ-G99RS 进行测序

新建分析任务和进行分析

概述

本快速操作指南用于指导快速使用 DNBelab-D4RS Pa-SNPs 试剂盒进行无创亲子鉴定。

物料信息如下:

类型	名称	备注
仪器	DNBelab-D4RS 数字化样本制备系统	货号: 900-000625-00
	DNBSEQ-G99RS 基因测序仪	货号: 900-000611-00
	10 μ L 移液器、20 μ L 移液器、200 μ L 移液器	一般实验室品牌
	微型混匀仪	一般实验室品牌
	小型离心机	一般实验室品牌
软件	FGID 法医 DNA 鉴定分析系统	货号: FGI20230002
试剂	DNBelab-D4RS Pa-SNPs 文库制备试剂套装	货号: 940-002477-00
	DNBSEQ-G99RS 高通量测序试剂套装 (FCL SE100/PE50)	货号: 940-001268-00
耗材	带滤芯吸头	一般实验室品牌
	普通移液器吸头	一般实验室品牌
	0.2 mL PCR 管	一般实验室品牌
	阔口吸头	北京范德生物, BI-200KX-H 或 AXYGEN T-205-WB-C

准备试剂

- 从 DNBelab-D4RS Pa-SNPs 分型试剂盒 (Box2) (货号: 940-002106-00) 中取出磁珠 (A567-Pa-BE), 室温平衡半个小时。
其他冷藏试剂用涡旋振荡器充分混匀, 短暂离心后常温备用。
- 从 DNBelab-D4RS Pa-SNPs 分型试剂盒 (Box1) (货号: 940-002108-00) 中取出所有试剂, 置于冰上解冻。解冻后轻弹管底 8 次 (C6-Pa-DNB 2 轻弹 2 次即可), 短暂离心后, 置于冰上备用。
- 任选一组 BC 使用:

组别	试剂	Barcode 列表 (1-128)
1	B5-Pa-BC 1	1
	B6-Pa-BC 2	2
	B7-Pa-BC 3	3
	B8-Pa-BC 4	4
2	B5-Pa-BC 5	5
	B6-Pa-BC 6	6
	B7-Pa-BC 7	7
	B8-Pa-BC 8	8
3	B5-Pa-BC 9	9
	B6-Pa-BC 10	10
	B7-Pa-BC 11	11
	B8-Pa-BC 12	12

组别	试剂	Barcode 列表 (1-128)
4	B5-Pa-BC 13	13
	B6-Pa-BC 14	14
	B7-Pa-BC 15	15
	B8-Pa-BC 16	16



注意

- 建议严格分区, 物理阻隔污染。建议在前区使用带滤芯吸头进行样本准备及装填制备卡操作, 在后区使用 DNBelab-D4RS 进行样本制备, 避免污染影响结果准确性。
- 请勿将 C6-Pa-DNB 2 置于室温, 请勿长时间触碰管壁。
- C7-Pa-QU 请尽量避免。

准备样本



提示

- 建议 gDNA 样本浓度 ≥ 0.2 ng/ μ L, cfDNA 样本浓度 ≥ 0.4 ng/ μ L (采用 Qubit dsDNA HS Assay Kit 进行定量)。
 - cfDNA 建议现提现用。
 - 建议将提取完成的 cfDNA 置于 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C 保存, 并在一周内使用。如保存时间超过一周, 建议使用在 -80 $^{\circ}$ C 保存的血浆或新鲜血浆重新提取 cfDNA。
- 取 4 ng cfDNA (胎儿) 或 2 ng gDNA (父亲、母亲) 至新的 0.2 mL PCR 管, 加入 A123-Pa-EB 补充至总体积 10 μ L。

准备试剂

准备样本

装填样本制备卡

使用 DNBelab-D4RS 制备 DNB

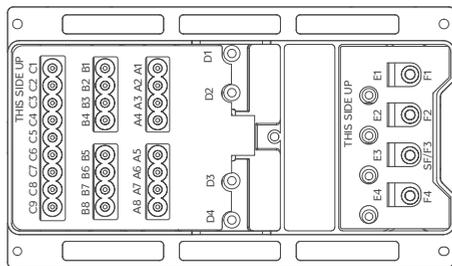
使用 DNBSEQ-G99RS 进行测序

新建分析任务和进行分析

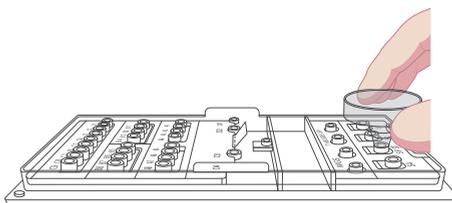
2. 样本混合液: 向上述 10 μL 的样本中加入 20 μL A567-Pa-BE, 涡旋振荡 3 次, 每次 3s, 瞬时离心将反应液收集至管底, 常温放置待用。

装填样本制备卡

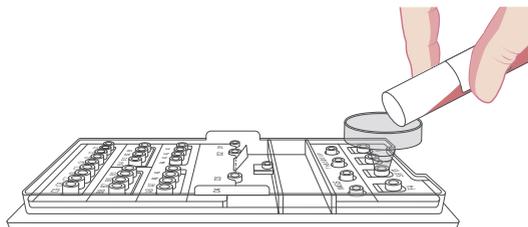
1. 将操作指示卡置于样本制备卡相应的位置。



2. 将加液装置插入 SF/F3 孔。



3. 打开封闭液管盖, 将封闭液全部倒入加液装置。

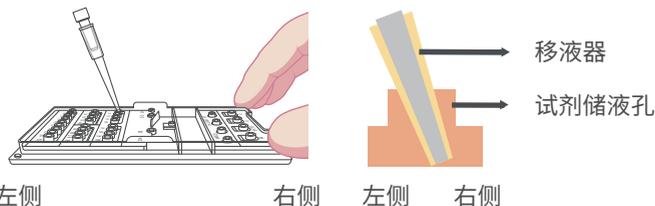


- 待封闭液填满整张样本制备卡后, 取下加液装置。
- 按照下表, 将试剂加至制备卡的对应孔位。每次加入试剂均需要更换移液器吸头。



注意

- 加样顺序为 A 孔、B 孔、C 孔。
- 吸头垂直插至孔底后, 吸头指向中间, 倾斜约 30 ° 再打入液体。



- 尽量避免打入气泡。

试剂名称	管盖颜色	加载体积	制备卡孔位	储存温度
A123-Pa-EB		30 μL	A1, A2, A3	2 °C ~ 8 °C
A4-Pa-DNB 1		30 μL	A4	-25 °C ~ -15 °C

试剂名称	管盖颜色	加载体积	制备卡孔位	储存温度
A567-Pa-BE		30 μL	A5, A6, A7	2 °C ~ 8 °C
B1-Pa-DNBB		15 μL	B1	-25 °C ~ -15 °C
B2-Pa-PCR 1		15 μL	B2	-25 °C ~ -15 °C
B4-Pa-ST		15 μL	B4	-25 °C ~ -15 °C
B5-Pa-BC 1				
B5-Pa-BC 5		6 μL	B5	-25 °C ~ -15 °C
B5-Pa-BC 9				
B5-Pa-BC 13				
B6-Pa-BC 2				
B6-Pa-BC 6		6 μL	B6	-25 °C ~ -15 °C
B6-Pa-BC 10				
B6-Pa-BC 14				
B7-Pa-BC 3				
B7-Pa-BC 7		6 μL	B7	-25 °C ~ -15 °C
B7-Pa-BC 11				
B7-Pa-BC 15				
B8-Pa-BC 4				
B8-Pa-BC 8		6 μL	B8	-25 °C ~ -15 °C
B8-Pa-BC 12				
B8-Pa-BC 16				
C6-Pa-DNB 2		6 μL	C6	-25 °C ~ -15 °C

准备试剂

准备样本

装填样本制备卡

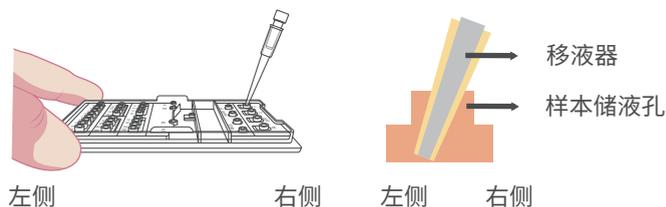
使用 DNBelab-D4RS 制备 DNB

使用 DNBSEQ-G99RS 进行测序

新建分析任务和进行分析

试剂名称	管盖颜色	加载体积	制备卡孔位	储存温度
C7-Pa-QU		6 μ L	C7	2 $^{\circ}$ C ~ 8 $^{\circ}$ C

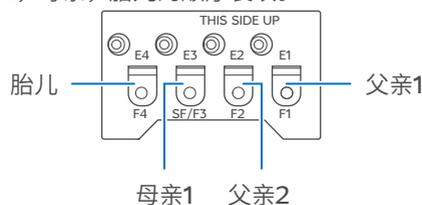
6. 分别将 30 μ L 不同样本混合液加入到 F1、F2、F3、F4 孔。



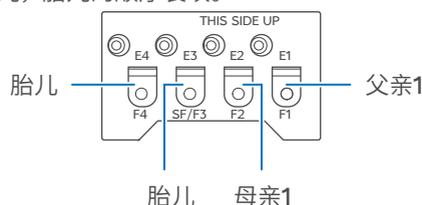
 提示

F1-F4 孔样本顺序依次为父亲，母亲，胎儿。

- 若存在多个父亲样本，按照 F1-F4 依次为父亲 1，父亲 2，母亲，胎儿的顺序装填。



- 若无多个父亲样本，按照 F1-F4 依次为父亲，母亲，胎儿，胎儿的顺序装填。

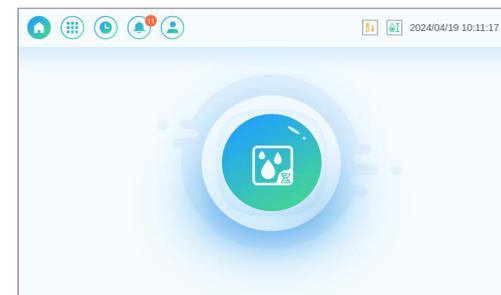


7. 确认已将试剂和样本加入样本制备卡中且均处于封闭液下层。
8. 取下操作指示卡。

使用 DNBelab-D4RS 制备 DNB

1. 将仪器背面的电源按钮拨至【ON】位置。仪器开始自检。
完成后，系统进入登录界面。
2. 输入用户名 (*admin*) 和初始密码 (*123456*)，点击【登录】进入主界面。

3. 点击  开始流程。。



4. 使用扫码枪扫描试剂盒外包装上的二维码，录入试剂盒信息。完成后，点击  进入下一步。



5. 使用扫码枪扫描制备卡外包装上的二维码，录入制备卡信息。完成后，点击  进入下一步。

准备试剂 准备样本 装填样本制备卡 **使用 DNBelab-D4RS 制备 DNB** 使用 DNBSEQ-G99RS 进行测序 新建分析任务和进行分析



6. 点击【适配测序平台】后面的下拉图标，选择【DNBSEQ-G99】。完成后，点击 (>) 进入下一步。



7. 填写样本名称及 barcode 信息，选择样本属性。完成后，点击 (>) 进入下一步，再次点击 (>) 进入下一步。制备卡仓门自动打开，载台自动推出。



8. 按照界面提示，将装填好的样本制备卡放置在载台上。完成后，点击 (>)。



9. 确认制备卡已放至载台，点击【确定】，进入装载制备卡界面，载台自动收回。

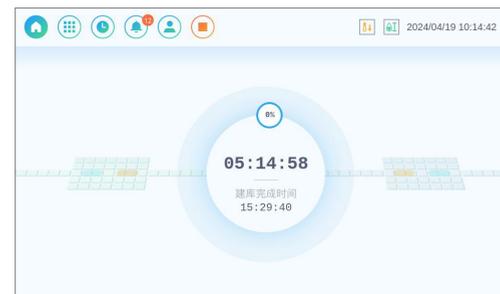
10. 界面显示装载完成后，手动关闭仓门。点击 (>) 进入下一步。



11. 回顾已选择信息是否正确。确认无误后，点击 (运行)。



运行中，界面显示建库剩余时间和完成时间。



准备试剂

准备样本

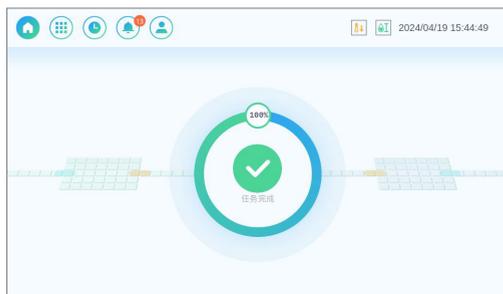
装填样本制备卡

使用 DNBelab-D4RS 制备 DNB

使用 DNBSEQ-G99RS 进行测序

新建分析任务和进行分析

12. 在建库完成界面，点击 ，弹出建库报告。



报告显示 DNB 浓度及建议样本投入量。DNB 浓度 $\geq 8 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 即为合格。

通道	样本序列号	Barcode	属性	结果(ng/ μL)	建议投入(μL)
通道1	Demo-F1	1	父亲1	16.16	1.86
通道2	Demo-F2	2	父亲2	17.04	1.76
通道3	Demo-M	3	母亲1	17.00	1.18
通道4	Demo-C	4	胎儿	9.59	8.34

13. 点击  进入下一步。仓门自动打开，载台自动推出。

14. 取出样本制备卡，置于平整桌面上待用。



15. 吸取 DNB:

- ① 将移液器量程调至 $50 \mu\text{L}$ 。
- ② D1-D4 分别对应 F1-F4。使用阔口吸头按顺序将 D1-D4 产物孔中的 DNB 吸出并分别转移到 4 个 PCR 管。确保吸头垂直插入产物孔，保持封闭。吸取不同 DNB 需更换吸头。
- ③ 用 $200 \mu\text{L}$ 尖嘴吸头或 $10 \mu\text{L}$ 尖嘴吸头尽量去除上层油相，直至中心透明水相露出。
- ④ 取一张吸油纸平放在试验台上。
- ⑤ 将移液器调整至 $10 \mu\text{L}$ 量程，用新的 $10 \mu\text{L}$ 尖嘴吸头，从液体中心垂直插入 DNB 中，吸取 $10 \mu\text{L}$ DNB，吸取过程中吸头随 DNB 下移，避免吸取到油相。
- ⑥ 将 DNB 转移到吸油纸上。若没有明显湿润现象，直接进行步骤 ⑦。若存在湿润现象，使用新的阔口吸头吸取油纸上的 DNB，并转移到油纸其他干净位置，直至油纸上无明显湿润现象。每次使用新的吸头吸取 DNB。

- ⑦ 用新的 $10 \mu\text{L}$ 尖嘴吸头吸取吸油纸上完成去油的 DNB，分别转移到 4 个新的 PCR 管中（请勿混到一个管中）。
- ⑧ 按照界面提示的混合体积，吸取对应的体积到一个新的 1.5 mL 离心管中，并使用新的阔口吸头轻柔混合两次。混合体积需 $\geq 7.5 \mu\text{L}$ ，若混合体积 $< 7.5 \mu\text{L}$ ，可按照等比例增大各个 DNB 的混合体积。混合好的 DNB 与剩余 DNB 保存于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中。

 提示

- 若未吸取 DNB，可把吸出的油相排出到 F 孔中，更换阔口吸头，再次吸取。
- DNB 可置于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用（48 小时内使用）。

16. 点击 ，在弹窗中点击【确定】，载台自动收回。

17. 按界面提示手动关上仓门。完成后，点击  回到主界面。



18. 若不继续使用，可点击  > 【关机】，并将仪器背面的电源按钮拨至【OFF】位置。

准备试剂

准备样本

装填样本制备卡

使用 DNBelab-D4RS 制备 DNB

使用 DNBSEQ-G99RS 进行测序

新建分析任务和进行分析

使用 DNBSEQ-G99RS 进行测序

准备测序载片

取出载片在室温环境下放置至少 30 分钟,但不超过 24 小时,以进行 DNB 加载。

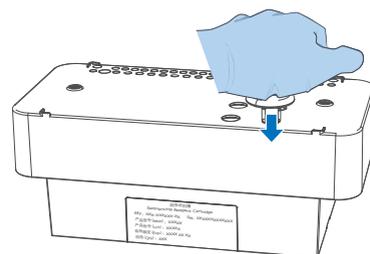
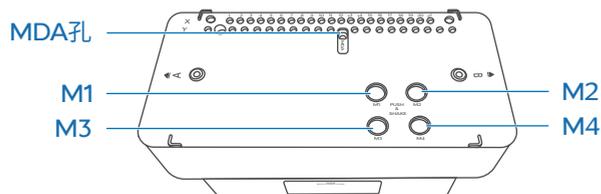


提示

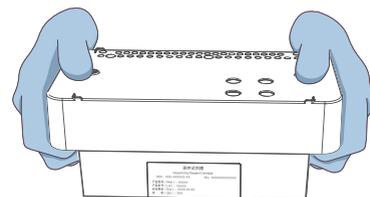
此时请勿拆开真空包装袋。

准备测序试剂槽

- 取出测序试剂槽,常温水浴解冻2小时,或提前一天将测序试剂槽置于2 °C ~8 °C冰箱解冻。解冻后的试剂槽置于 2 °C ~8 °C的冰箱中备用。
- 颠倒混匀试剂槽 5 次。撕掉包装袋,使用无尘纸擦净盖板及孔位处的冷凝水。
- 将配套的按压器对准柱塞,用手掌将四个柱塞按压到位。



- 按照试剂槽上的标识,双手握住试剂槽 A、B 两侧,上下、左右摇晃混匀 20 次,保证试剂充分混匀。



- 用洁净的1 mL 吸头戳破试剂槽上标识的 MDA 孔。



提示

准备好的试剂槽可放 4 °C 暂存, 24 小时内使用。

开始测序

- 点击测序仪控制软件主界面右上角的 , 输入用户名 (user) 与密码 (123), 点击【登录】。登录后, 返回控制软件主界面。
- 选择空闲状态下的 A 边或 B 边进行测序, 点击界面上的【测序】。
如需双边测序, 点击【测序 A&B】。

- 点击【测序】。

- 如果废液仓门自动弹出, 根据界面提示放置空的废液桶, 放置后轻按以关闭废液仓门。系统自动进入测序前自检。
- 如果废液仓门没有打开, 系统自动进入测序前自检。

- 自检完成后点击【下一步】, 填写测序信息。

默认情况下, 测序类型选择【仅测序】, BBS 选择【否】, 在【DNB ID】输入框输入 DNB 信息。

- 在【测序方案】下拉菜单中选择【SE50+10】测序方案, 并点击 Barcode 列表, 选择【1-128】。如无该测序方案或仪器的 SoftwareVersion 由较低版本升级至 1.7.0.674 及以上, ISW Version 为 V1.3.0.568 及以上, 需删除原测序方案, 重新自定义测序方案, 具体操作参考第 12 页“FAQ”的 Q18。

- 确认高级设置中的【拆分 Barcode】和【自动清洗】流程均选择【是】。

- 点击【下一步】, 升降屏自动上升。

- 将准备好的测序试剂槽推入试剂仓, 系统将自动识别测序试剂槽 ID, 并显示在【试剂槽 ID】输入框中。



提示

如无法自动识别, 可手动输入。

- 点击【试剂预载】, 选择【是】, 开始加载试剂。

- 试剂预载完成后, 升降屏自动上升。

准备试剂

准备样本

装填样本制备卡

使用 DNBelab-D4RS 制备 DNB

使用 DNBSEQ-G99RS 进行测序

新建分析任务和进行分析

加载 DNB

- 取出DNB加载缓冲液II和TE缓冲液，置于室温融化，用涡旋仪振荡混匀，短暂离心5秒后，置于冰盒上备用。
- 将 7 μL DNB 加载缓冲液 II 和 1 μL DNB 聚合酶缓冲液 II(LC) 混合后缓慢吹打混匀，作为加载混合液。
- 按下表所示将 DNB 加载混合液加入第 3 页“使用 DNBelab-D4RS 制备 DNB”第 15 步制备好的 DNB（混合 DNB 体积为 7.5 μL ~21 μL ）中。总混合体积需 $\geq 10 \mu\text{L}$ 。

组分	加入量 (μL)	
	$7.5 \leq V < 21$	$V \geq 21$
DNB 加载混合液	$8 \times (V/21)$	8
混合 DNB	V	21
总体积	$29 \times (V/21)$	29

- 用非滤芯阔口吸头缓慢混匀 DNB 加载体系 5~8 次，混匀后放置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 备用。
- 取出载片，检查载片完整性。
- 用 200 μL 非滤芯尖口吸头吸取 10 μL DNB 加载体系并垂直插入载片流路入口中。



提示

DNB 加载体系需现配现用。切勿离心、振荡及剧烈吹打。

- 一只手固定住吸头，按下移液器上的吸头脱卸按钮卸载吸头，观察吸头中液面下降情况。
 - 若液面自动下降，DNB 加载体系自动流入载片中。

- 若液面没有下降，执行如下操作：
 - 将含有 DNB 的尖口吸头留在进液口。
 - 将移液器调至 2 μL ，取一个新的 200 μL 非滤芯尖口吸头。
 - 按压住控制按钮将空吸头插入（轻轻插入即可）载片出液口。
 - 轻轻松开控制按钮（观察到液面下降）后拔出出液口吸头。
- 确保样本加载完成后，拔出尖口吸头。将载片正面朝上。

放置载片与复核信息

- 将载片带有标签的一面朝上，按该面箭头指示方向，插入载片平台，系统将自动识别载片 ID。如扫描失败，可手动输入 ID。
- 点击【下一步】，升降屏自动关闭。
- 在测序信息回顾界面，确认各项信息无误后，点击【测序】。在弹出的对话框中选择【是】，开始测序。控制软件界面实时显示测序阶段和步骤。
- 测序完成后，点击【完成】，结束测序流程。系统自动打开升降屏和废液仓门。检查 summaryReport 报告，确认满足以下数据：TotalReads(M) $\geq 80\text{M}$ ，Q30($\%$) $\geq 90\%$ ，SplitRate($\%$) $\geq 90\%$ 。

仪器清洗与维护

如果在设置参数界面已勾选【自动清洗】，测序完成后系统将执行自动清洗流程。具体操作，参考 DNBSEQ-G99RS 高通量测序试剂套装说明书。

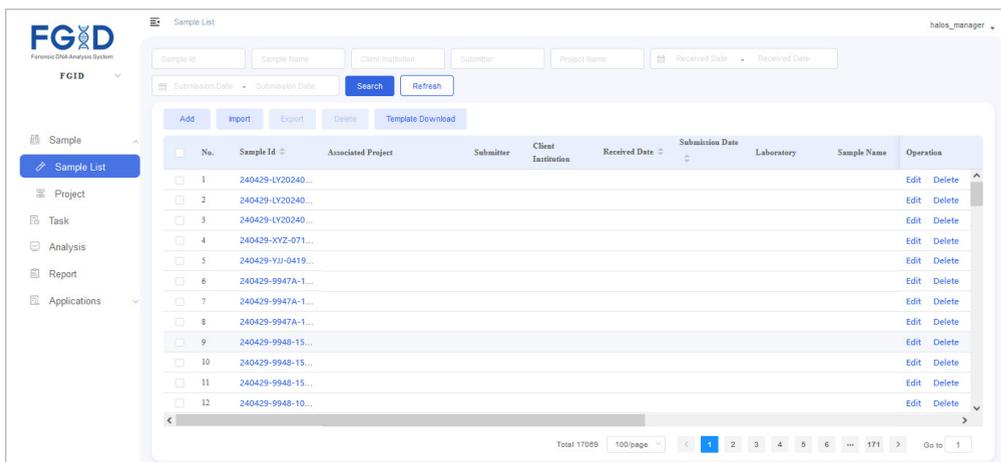
新建分析任务和进行分析

选择分析产品

- 打开 Chrome 浏览器，浏览器语言设置为英文，在地址栏中输入如下 IP 地址，按【Enter】键，进入 FGID 自动分析系统登录界面：
192.168.1.3:8080
- 选择默认用户登录，进入主界面。
- 选择【FGID】，进入系统。

录入样本信息

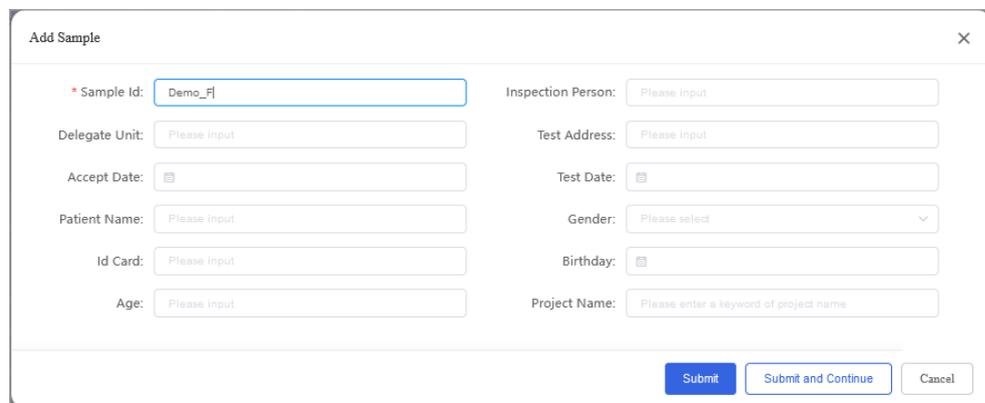
点击【Sample】，选择【Sample List】，进入样本列表。



选择以下一种方法导入样本：

• 方法一：手动添加

① 点击 **【Add】**，在弹出的样本添加窗口中，输入样本信息。



② 点击 **【Submit】** 或 **【Submit and Continue】** 继续添加样本。

• 方法二：列表导入

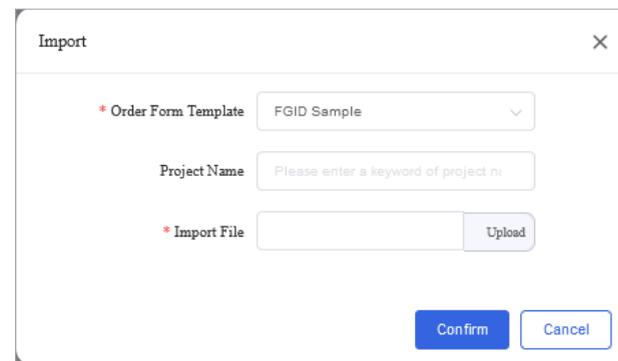
① 点击 **【Template Download】** 下载样本导入模板。

② 将样本信息填入表格，编辑完成后点击 **【保存】**。

提示

带 * 的样本编号为必填项，其他为选填项（Age≥1, Id Card 最多 18 位数）。

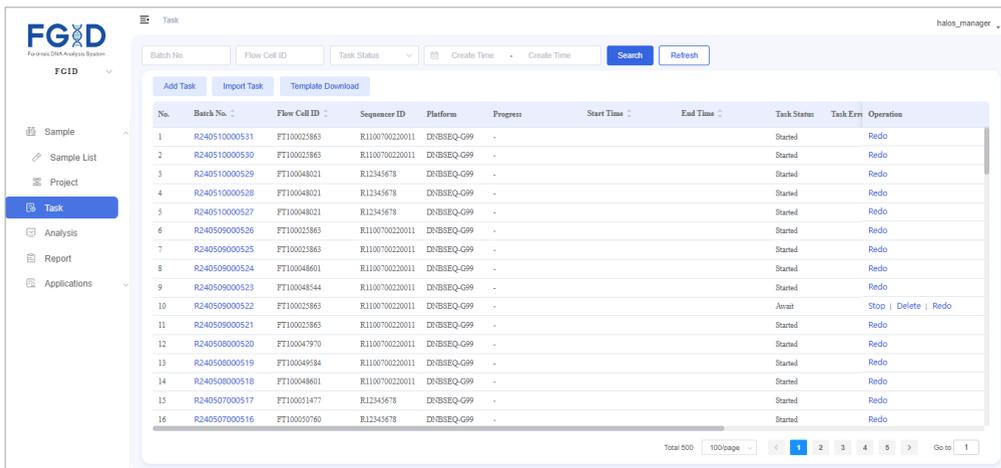
③ 点击 **【Import】**，在样本导入窗口中点击 **【Upload】**，选择已填入信息的表格，点击 **【Confirm】**。



新建分析任务

按照以下步骤新建分析任务：

准备试剂 准备样本 装填样本制备卡 使用 DNBelab-D4RS 制备 DNB 使用 DNBSEQ-G99RS 进行测序 新建分析任务和进行分析



1. 点击 **【Task】** > **【Template Download】**，下载任务投递模板。
2. 在任务投递模板的 H1 单元格输入 **【Cutoff】**。
3. 在任务投递模板 **【FGID_task_template】** 中填写相关信息：
 - ① **【Lane ID】** 列默认输入 L01。
 - ② **【DNB ID】** 列输入 DNB ID，同一个分析任务内 DNB ID 需一致。
 - ③ **【Is Dual Barcode】** 选择 **【No】**。
 - ④ 在 **【barcode ID1】** 列输入 barcode ID，**【barcode ID2】** 不填写。
 - ⑤ 在 **【Kit Name】** 列选择 **【MGEasy Pa-SNPs Genotyping Kit】**。
 - ⑥ **【Cutoff】** 列输入样本所需截取数据量（单位 M）。父母样本输入 **【5】**，表示截取 5M Reads 用于分析。胎儿样本输入 **【25】**，不截取则输入 **【None】**。

	A	B	C	D	E	F	G	H
	*Sample ID	*Lane ID	*DNB ID	*Is Double Barcode	*barcode ID1	barcode ID2 (If its Double Barcode is yes, barcode ID2 is required)	*Kit Name	Cutoff
1.	Demo_F	L01	20240430	No			MGEasy Pa-SNPs Genotyping Kit	5
2.	Demo_M	L01	20240430	No			MGEasy Pa-SNPs Genotyping Kit	5
4.	Demo_C	L01	20240430	No			MGEasy Pa-SNPs Genotyping Kit	25
5.								
6.								
7.								
8.								

4. 在 Task 任务界面，点击 **【Import Task】**。
5. 选择 Sequencer ID，填写 Flow Cell ID，点击 **【Upload】**。
6. 选择编辑好的任务列表，点击 **【Preview】** 预览导入的任务详情，确认无误后点击 **【Comfirm】**。
任务状态显示 **【Started】**，则成功提交任务。

启动分析

样本测序完成后，分析系统会自动启动基础分析任务。

查看基础数据分析结果

在 FGID 自动分析系统主界面，点击 **【Analysis】**，查看基础数据分析进度。



提示

- Sample ID 需与在 FGID 系统的 Sample List 中导入的 Sample ID 完全一致，包括大小写字母，且同一张芯片内，同一个 Barcode 只能对应一个 Sample ID。
- 建议一个 Sample ID 只投递一个分析任务，避免家系分析时样本混淆。

准备试剂

准备样本

装填样本制备卡

使用 DNBelab-D4RS 制备 DNB

使用 DNBSEQ-G99RS 进行测序

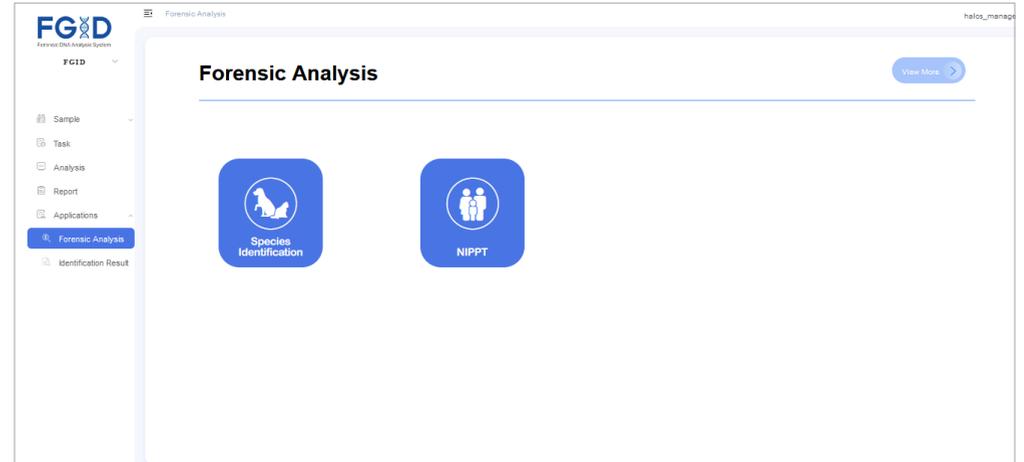
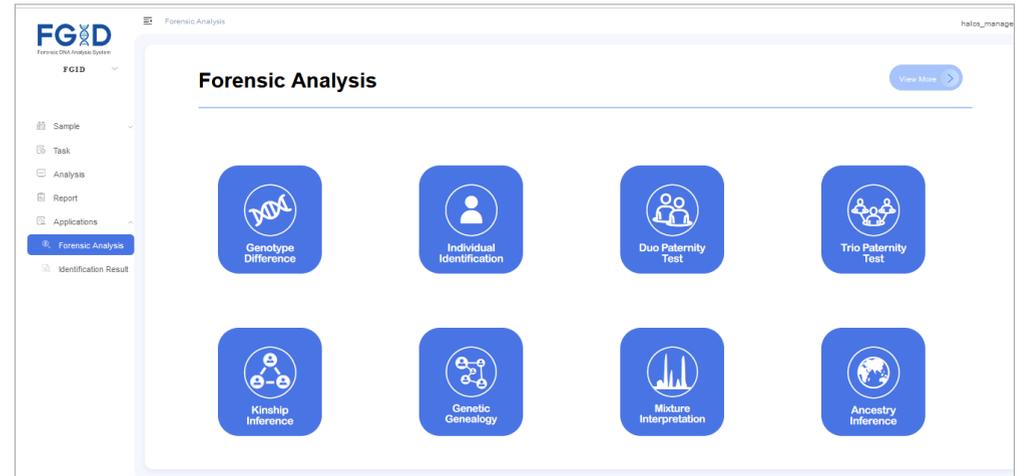
新建分析任务和进行分析

Batch No.	Flow Cell ID	Total Of Sample	SubBatch Count	Finished Rate	Start Time	End Time	Clip QC File																														
1	R40027000813	4	1	0/1 (0%)	2024-08-27 10:17:58		Download																														
<table border="1"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>Sub Batch No.</th> <th>Kit Name</th> <th>Current Step</th> <th>Sample Count</th> <th>Status</th> <th>Error Message</th> <th>Start Time</th> <th>End Time</th> <th>Operations</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>R4002700081301</td> <td>MGI250 Pa-SNPs Genotyping Kit</td> <td>Set</td> <td>4</td> <td>Waiting</td> <td></td> <td>2024-08-27 10:17:58</td> <td></td> <td>Stop</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>R40027000811</td> <td>FT10001384</td> <td>1</td> <td>1</td> <td>100%</td> <td></td> <td>2024-08-29 14:42:07</td> <td>2024-08-29 15:20:54</td> <td>Download</td> </tr> </tbody> </table>								No.	Sub Batch No.	Kit Name	Current Step	Sample Count	Status	Error Message	Start Time	End Time	Operations	1	R4002700081301	MGI250 Pa-SNPs Genotyping Kit	Set	4	Waiting		2024-08-27 10:17:58		Stop	2	R40027000811	FT10001384	1	1	100%		2024-08-29 14:42:07	2024-08-29 15:20:54	Download
No.	Sub Batch No.	Kit Name	Current Step	Sample Count	Status	Error Message	Start Time	End Time	Operations																												
1	R4002700081301	MGI250 Pa-SNPs Genotyping Kit	Set	4	Waiting		2024-08-27 10:17:58		Stop																												
2	R40027000811	FT10001384	1	1	100%		2024-08-29 14:42:07	2024-08-29 15:20:54	Download																												

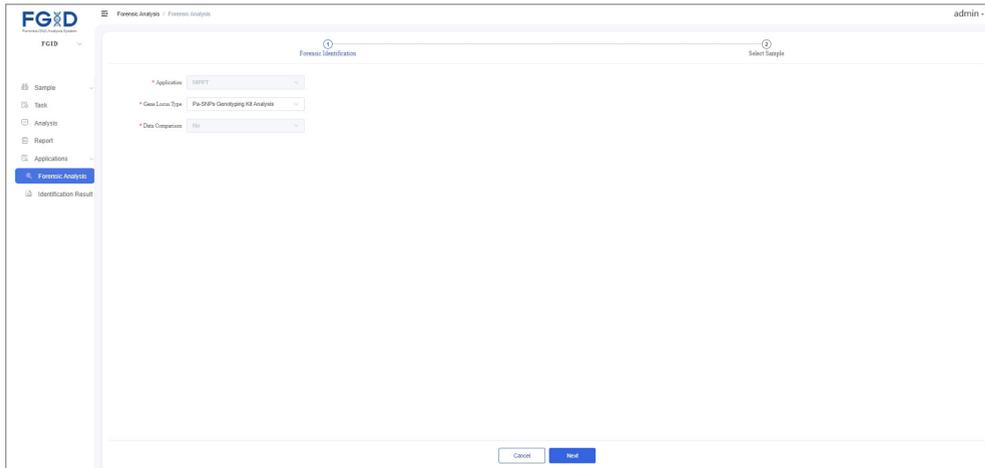
1. 点击【Flow Cell ID】前的 >，可以查看该项分析任务的进度或报错原因。
 - 【Status】为当前分析任务状态，显示【Finished】则表示完成基础数据分析，可进行下一步家系分析。
 - 【Current step】为当前任务的分析步骤。点击【Current step】下方的状态文字，可以查看分析流程图及当前进度。
2. 任务完成后，点击【Batch No.】，查看单样本基础数据分析结果。点击【Export】可导出结果文件。

提交家系分析任务

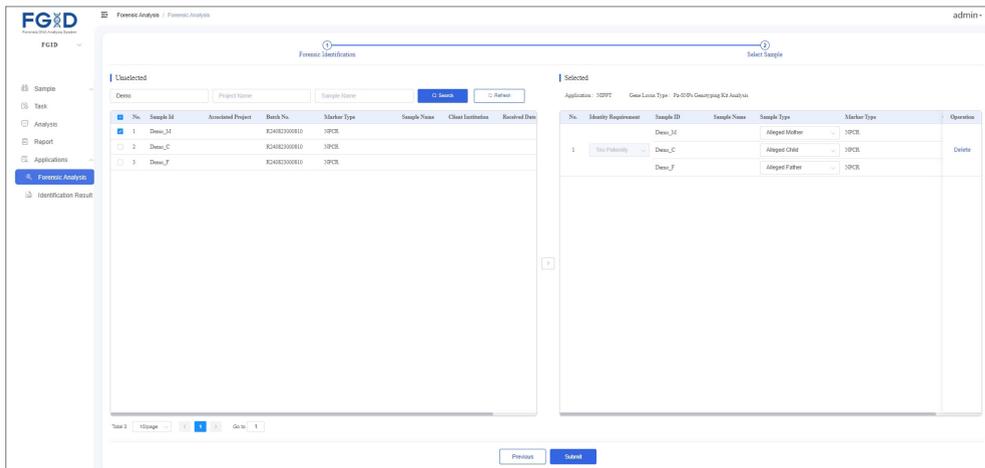
1. 点击【FGID】>【Applications】>【Forensic analysis】>【View More】>【NIPPT】进入家系分析应用。



2. 选择【Gene Locus Type】>【Pa-SNPs Genotyping Kit Analysis】参数。



3. 点击 **Next**，进入家系分析样本选择界面。选择家系分析样本：



- ① 在检索栏输入对应样本信息进行检索。勾选需要进行家系分析的样本（注意核查 **Sample Id** 与 **Batch No.**），点击 **>**，将样本添加到 **Selected** 列表。
 - ② 在 **Sample Type** 列选择样本身份。
 - ③ 点击 **Submit**，提交家系分析任务。
4. 查看家系分析结果。

No.	Batch No.	Sample ID	Relationship	Identity Status	Identity Result	Document Status	Case Locus Type	Application	Additional Parameter	Document Upload Time	Operator	Operation
1	FG2024020001	Demo_FDemo_MIDemo_C	Alleged Father, Alleged Mother, Child	Final	Inclusion	Final	STR	STRPT	Yao Panpan	2024-09-20 11:40	Admin	Data Download Preview Delete

- ① 点击 **FGID** > **Applications** > **Identification Result** 进入分析结果界面。
- ② 点击 **Preview** 预览分析报告。
- ③ 点击 **Data Download** 可下载该家系分析结果文件。
分析结果文件为压缩包，包含 word 版报告文档及 result 文件夹。result 文件夹包含以下内容：
 - a. r0.paternity_results.txt: 亲缘分析位点信息，包含父母 **SNP** 分型、胎儿四碱基深度及位点 **PI** 结果
 - b. r0.paternity_results.xlsx: r0.paternity_results.txt 的 **xlsx** 格式
 - c. r1.result.txt: 亲缘分析结果文件，word 版报告引用文件
 - d. r2.analysis.xlsx: 亲缘分析指标



提示

- 为了保证结果的可靠性，每个家系分析结果均需检查 **result** 文件夹的 **r2.analysis.xlsx**，确定各项指标是否异常。更多详细解释，参考第 12 页“FAQ”的 Q16。
- 家系分析结果有: **Inclusion**、**Exclusion**、**Inconclusive**、**Inclusion-WrongMother**、**WrongSample** 五种情况，当结果为 **WrongSample** 时，可能是选择的样本角色错误，建议重新投递家系分析任务。更多详细解释，参考第 12 页“FAQ”的 Q16。

FAQ

- Q1** 进行该实验需要什么样的实验室环境？日常需要如何维护？
- A** 建议按照正常 PCR 的前后区进行分区操作，上机前的准备工作均建议在前区操作，减少气溶胶污染。建议定期进行实验室清洁。如无法进行分区，可在超净工作台内进行上机前准备工作。
- Q2** 对母亲的样本类型有什么限制吗？
- A**
- 本产品仅适用于 8 周及以上且游离 DNA 中胎儿浓度高于 2% 的样本。
 - 本产品不适用于双胞胎及多胞胎样本。
 - 本产品不适用于母亲患有肿瘤性疾病、妊娠期先兆子痫 / 毒血症、接受过输血、骨髓或器官移植、干细胞治疗的样本。
- Q3** 对父亲的样本类型有什么限制吗？
- A** 只要提取的 DNA 浓度 $\geq 0.2 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 即可使用。
- Q4** DNA 的提取有没有建议使用的试剂盒？
- A**
- gDNA 提取建议使用 MGIEasy 基因组 DNA 提取试剂盒（品牌：MGI，货号：100010524，适用于唾液、血液和口腔拭子）、微量样品基因组 DNA 提取试剂盒（品牌：TIANGEN，货号：DP316，适用于毛发、精斑、干血点、口香糖、指甲等 DNA 含量少的样本）。
 - cfDNA 提取建议使用 HiPure Circulating DNA Midi Kit（品牌：MAGEN，货号：D3182-03A）。
- Q5** 样本投入量只能是 gDNA 2ng，cfDNA 4ng 吗？
- A** 若投入量过大，可能会导致样本产出数据量差异大。如果需加大投入量进行建库，建议一张 DNBSEQ-G99 FCL 芯片只进行一个家系测序。
- Q6** 样本制备卡加载完封闭液是否可以倒置？
- A** 样本制备卡加载完封闭液后不可倒置或过度倾斜，该操作会导致封闭液流出，不足以完成建库所需体积，该制备卡不可继续使用。转移样本制备卡的过程，需尽量保持平移，不可倾斜。
- Q7** 实验的目标扩增子片段大小范围是多少？
- A** 实验的目标插入片段大小范围是 60 bp~90 bp，扩增子大小是 144 bp~174 bp。
- Q8** 是否可以和 NIPT 的文库混测？如何混？
- A** 可以混合进行 SE50+10 测序，需要错开 barcode，并在分别制备 DNB 后按照所需数据量比例，进行相应 DNB 质量的混合后上机。
- Q9** DNB 是否必须去掉上层油相？
- A** DNB 必须去除上层油相，否则残留的油相会影响测序质量。

- Q10** 若非本机下机数据或往期下机数据需要使用服务器进行分析，应该怎么操作？
- 可将 fq 文件拷贝至硬盘中，通过 Filezilla 传输到服务器上，操作方法如下：
1. 向下按压服务器顶盖，抬起服务器顶盖。
 2. 将硬盘插入左侧 USB 口。
 3. 在桌面双击打开 Filezilla 软件，点击左上角【文件】>【站点管理器】或者直接点击站点管理器快捷键，在【我的站点】选择 Upload 账户，点击【连接】，登录 Uploader 账户。
 4. 在右侧远程站点输入【/mnt/das/Data】，选择测序仪 ID（可与实际测序仪 ID 不一致）。
- A**
5. 在左侧本地站点选择要上传的芯片，文件夹目录层级需为：芯片号 /L01。
 6. 选中要上传的芯片号，右键选择上传。
 7. 在右侧远程站点上传的测序仪 ID 目录下，点击【Info】>【Upload】，进入该路径，在空白处右键选择【创建新文件】创建标志性文件，文件名称为：【芯片号_L01.txt】。
 8. 上传成功后，即可投递分析任务。
-  **提示**
- 标志性文件必须创建，否则会无法启动该芯片的分析。
- Q11** 如果测序后自动分析失败，可以怎么重新启动分析？
- A**
1. 登录 Uploader 账户。
 2. 在右侧远程站点输入【/mnt/das/Data】，选择对应测序仪编号的文件夹，查看芯片是否已存在。
 3. 若对应芯片已存在，可查看任务投递表格是否正确，或进入系统界面，点击【Task】>对应任务编号 Batch No. 确定任务投递信息是否正确。检查确定信息无误后，点击【Task】，在【Operation】点击【Redo】重新启动分析。
 4. 若对应芯片不存在，可参照 Q10 中的步骤 3-8 将芯片上传到服务器上。
- Q12** 单个家系至少需要多少数据量，每张 G99 芯片最多可上多少家系？
- A** 单个家系 gDNA 最低需要 3M Reads，cfDNA 最低需要 15M Reads，每张 G99 芯片最多可上 3 个家系。
- Q13** 导出的基础数据分析结果包含有哪些文件？
- 导出的基础数据分析结果包含 infoQC.txt、r0.QualityControl.xlsx、r1.CompareSummary.xlsx 以及各个样本的分型结果和 vcf 文件。
- A**
- infoQC.txt: 样本的基础数据分析结果，包含 MappedRate、TargetOnMap、Coverage $\geq 100\text{X}$ 、Coverage $\geq 1000\text{X}$ 、Uniformity(0.1) 等数据质控结果。
 - r0.QualityControl.xlsx: infoQC.txt 的 xlsx 格式。
 - r1.CompareSummary.xlsx: 样本之间的 SNP 比较结果。当样本名称中包含有“-”时，以第一个“-”作为分组标志，“-”之前字符一致的作为同组进行 SNP 比较，如：a-1-1、a-2-1、a_1-1、a_1-2 这几个样本，a-1-1 和 a-2-1 以“-”作为分组标志进行比较，a_1-1 和 a_1-2 以“a_1-”作为分组标志进行比较。
 - 样本名称命名的文件夹包含样本分型结果和 vcf 文件。

Q14	分析所用的 SNP 选点原则是什么? 频率信息来自什么数据库? 如果想替换成当地人群的位点频率该怎么操作?
A	使用的 SNP 频率来自千人基因组计划 (1000 Genomes Project), 使用的是全球频率数据, 选取的每个 SNP 的等位基因频率都在 0.35 以上, 并且没有 SNP 之间的连锁。如果想替换成当地人群的位点频率, 可以咨询售后工程师并提供频率信息, 由开发工程师进行替换。
Q15	基础数据分析结果为空是什么原因?
A	基础数据分析结果为空, 可能是该样本没有 fq 文件, 请检查投递任务中该样本对应的 Barcode 是否正确。查看方式: 检查任务投递表格或依次点击: Task- 对应任务编号 Batch No. 即可看到该样本投递信息。
Q16	家系分析结果的判定指标是什么?
A	<ul style="list-style-type: none"> • Inclusion 的判定指标是 $CPI > 1.0e+04$, 且 $Z-Score \geq 3$, 表明该疑父与胎儿具有亲缘关系的可能性 $> 99.999999\%$。当判定结果为 Inclusion 时, 需要确认 $Err(SNPs) \leq 1.00\%$, 如高于该范围, 表明可能实验过程存在污染, 结果可信度低, 建议重新建库。 • Exclusion 的判定指标是 $CPI < 1.0e-04$, 且 $Z-Score < 10$, 表明该疑父与胎儿具有亲缘关系的可能性 $< 0.00000001\%$。 • Inclusion-WrongMother 的判定指标是 $CPI < 1.0e-04$, 而 $Z-Score \geq 10$, 这提示这个家系的母亲可能不是胎儿的生物学母亲。当家系判定结果为 Inclusion-WrongMother 时, 需核查样本浓度、建库浓度、样本存放时间及条件。 • WrongSample 的判定指标是 $Fetal(SNPs) \geq 100\%$ 或 $Err(SNPs) \geq 10\%$。当 $Fetal(SNPs) \geq 100\%$ 时, 可能是将父亲样本作为母亲角色进行分析。当 $Err(SNPs) \geq 10\%$ 时, 可能是将父亲样本作为胎儿样本进行分析。 • Inconclusive Range 的判定指标是 $CPI \geq 1.0e-04$ 且 $\leq 1.0e+04$ 以及无法判定成以上四种结果的情况, 这可能是因为样本中存在污染或者样本质量差导致可供分析的 SNP 数量少, 可以查看 $PI(SNPs)$ 中 SNPs 的数值是否偏低。
Q17	在 FGID 系统中下载的 FGID_sample_template 或 FGID_task_template 为空白的原因?
A	该现象可能是下载文件时系统的缓存时间差导致的, 请在点击下载后, 等待显示已下载完成再打开下载的文件。
Q18	怎么新建 [SE50+10] 测序方案?

如仪器的 SoftwareVersion 由较低版本升级至 1.7.0.674 及以上, ISW Version 为 V1.3.0.568 及以上, 需删除原测序方案, 重新自定义测序方案。具体操作步骤如下:

- A**
1. 点击 G99 主界面右上角  > 【设置】, 点击【测序方案设置】, 进入测序方案设置界面。在该界面, 可创建、删除测序方案, 调整测序方案显示顺序。
 2. 在测序方案设置界面点击【创建】, 进入创建测序方案界面。
 3. 【测序方案名称】输入【SE50+10】, 一链读长输入【50】, 【二链读长输入【0】】, 【Dualbarcode】输入【10】, 【Barcode】输入【0】。
 4. 点击【保存】, 系统自动返回测序方案设置界面。
 5. 点击【关闭】, 返回测序主界面。

--- 此页有意留白 ---