

MGIEasy

双端独立标签引物接头试剂盒使用说明书

货号：1000022801 (Set A, 96RXN)

1000022802 (Set B, 96RXN)

试剂盒版本号：V1.0

说明书版本号：A1

版本历史

| 说明书 版本 | 试剂盒 版本 | 修订 日期 | 修订内容摘要 |
|-----------|-----------|--------------|--|
| A1 | V1.0 | 2021年 1月 | <ul style="list-style-type: none"> 更新公司联系信息 |
| A0 | V1.0 | 2020年 10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：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 客户自备物料清单..... | 2 |
| 1.7 注意事项..... | 2 |
| 第二章 双 Barcode 使用指南..... | 3 |
| 2.1 Adapter 及 PCR Primer Mix 介绍..... | 3 |
| 2.2 Barcode Pooling 指南..... | 4 |

第一章 产品信息

1.1 产品描述

MGIEasy 双端独立标签引物接头试剂盒是针对华大智造 (MGI) 高通量测序平台文库制备专用的配套试剂盒, 适用于多样本混合测序。本试剂盒提供了DNBSEQ测序平台, MGISEQ测序平台双barcode文库构建所需的接头与PCR引物。试剂盒可以提供192种不同Barcode的PCR Primer, 可支持192个样本混合测序。利用双barcode的矫正功能, 试剂盒最大程度上保证了测序数据拆分的均一性和准确性。

1.2 适用范围

本试剂盒适用于搭配MGIEasy 建库试剂模块完成MGI测序文库构建。如搭配其他商业建库试剂盒进行文库构建, 请联系MGI获取建议或自行测试评估。

1.3 适配测序平台

构建的文库可用于DNBSEQ测序平台, MGISEQ测序平台测序, 以下为推荐的平台, 其他平台与读长使用前请联系MGI技术支持:

MGISEQ-2000RS

DNBSEQ-T7RS

1.4 试剂盒组分

本试剂盒有两种规格分别是Set A (barcode组合 UDB 1-96) 和Set B (barcode组合 UDB 97-192)。不同规格的试剂盒、货号、组分信息见表1和表2。

表1 MGIEasy 双端独立标签引物接头试剂盒 (Set A 96 RXN) (货号: 1000022801)

| 试剂盒种类与货号 | 组分信息 | 管盖颜色 | 规格及数量 |
|--|--------------------------------------|------|-------------------|
| MGIEasy 双端独立标签引物接头试剂盒 (Set A 96 RXN) 货号: 1000022801 | UDB Adapter (10 μM) | 白色 | 480 μL/支 × 1支 |
| | UDB PCR Primer Mix -01-96 (20 μM) | / | 96 RXN/板, 12 μL/孔 |

表2 MGIEasy 双端独立标签引物接头试剂盒 (Set B 96 RXN) (货号: 1000022802)

| 试剂盒种类与货号 | 组分信息 | 管盖颜色 | 规格及数量 |
|--|---------------------------------------|------|-------------------|
| MGIEasy 双端独立标签引物接头试剂盒 (Set B 96 RXN) 货号: 1000022802 | UDB Adapter (10 μM) | 白色 | 480 μL/支 × 1支 |
| | UDB PCR Primer Mix -97-192 (20 μM) | / | 96 RXN/板, 12 μL/孔 |

1.5 试剂盒储存条件及有效期

- ◆ 储存温度: $-25^{\circ}\text{C} \sim -15^{\circ}\text{C}$
- ◆ 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 客户自备物料清单

参考配套的文库制备试剂盒说明书。

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。
- ◆ 实验前请熟悉和掌握需使用的各种仪器的操作方法和注意事项。
- ◆ 为避免样本交叉污染, 推荐使用带滤芯的吸头, 吸取不同样本时请更换吸头。
- ◆ 本试剂盒的为双barcode文库专用试剂盒, 不能将本试剂盒接头/PCR Primer Mix用于单barcode文库构建等其他应用。
- ◆ 本试剂盒所构建文库需要搭配双barcode环化试剂盒(货号 1000020570)进行文库环化, 不可用使用其他环化试剂盒。
- ◆ MGI 双barcode文库既可进行单barcode测序亦可进行双barcode测序, 具体操作请参考对应单barcode/双barcode测序说明书。
- ◆ 关于操作流程

本试剂盒提供的Adapter用于文库制备的接头连接步骤, 详细的使用方法及使用量参考相应的文库制备试剂盒说明书。

- ◆ Adapter使用前必须先混匀并离心, 将液体聚集于管底或板底, 用吸水纸擦拭干净管盖或铝膜表面; 对于管式Adapters使用时需轻柔地揭开管盖, 防止液体飞溅, 避免交叉污染, 使用完毕后及时盖上管盖; 对于板式Adapters, 第一次使用时建议用移液器吸头刺穿铝膜直接吸取液体, 使用过程中注意更换吸头, 避免污染, 使用完毕后, 刺破孔位的剩余试剂需逐一转移到离心管中, 做好标记, -20°C 保存。
- ◆ 若您有其他疑问, 请联系MGI技术支持: MGI-service@mgi-tech.com

第二章 双 Barcode 使用指南

2.1 Adapter 及 PCR Primer Mix 介绍

- ◆ 本试剂盒Set A与Set B有同样的UDB Adapter；另各有一份不同的PCR Primer Mix。
- ◆ 每份PCR Primer Mix中含有两条引物，对应了96对双端唯一的一对barcode序列组合（见图1）。
- ◆ 使用时，请使用试剂盒中的Adapter和PCR Primer Mix进行二代测序接头连接和PCR扩增（见图2）。
- ◆ PCR Primer Mix含成对的两条引物（分别含barcode1和barcode2），编号与孔位对应情况见表3，4。



图1 双端独立标签引物接头试剂盒UDB Adapter和UDB PCR Primer Mix示意图

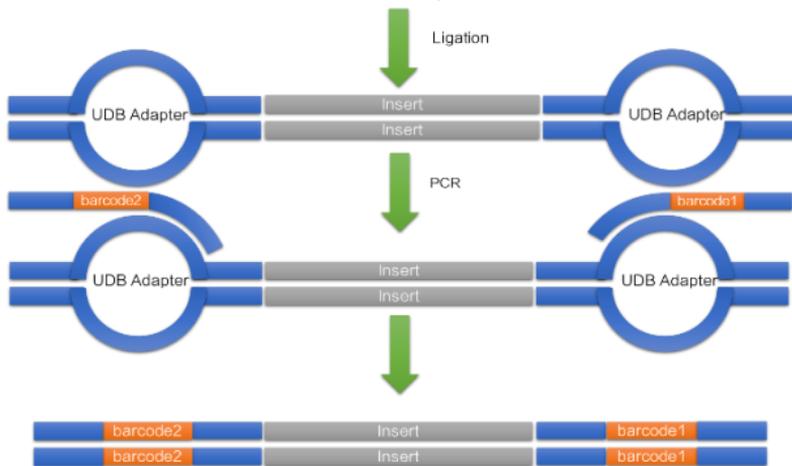


图2 双端独立标签引物接头试剂盒UDB Adapter和UDB PCR Primer Mix建库流程示意图

表 3 Set A barcode 组合孔位

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

表 4 Set B barcode 组合孔位

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| A | UDB 97 | UDB 105 | UDB 113 | UDB 121 | UDB 129 | UDB 137 | UDB 145 | UDB 153 | UDB 161 | UDB 169 | UDB 177 | UDB 185 |
| B | UDB 98 | UDB 106 | UDB 114 | UDB 122 | UDB 130 | UDB 138 | UDB 146 | UDB 154 | UDB 162 | UDB 170 | UDB 178 | UDB 186 |
| C | UDB 99 | UDB 107 | UDB 115 | UDB 123 | UDB 131 | UDB 139 | UDB 147 | UDB 155 | UDB 163 | UDB 171 | UDB 179 | UDB 187 |
| D | UDB 100 | UDB 108 | UDB 116 | UDB 124 | UDB 132 | UDB 140 | UDB 148 | UDB 156 | UDB 164 | UDB 172 | UDB 180 | UDB 188 |
| E | UDB 101 | UDB 109 | UDB 117 | UDB 125 | UDB 133 | UDB 141 | UDB 149 | UDB 157 | UDB 165 | UDB 173 | UDB 181 | UDB 189 |
| F | UDB 102 | UDB 110 | UDB 118 | UDB 126 | UDB 134 | UDB 142 | UDB 150 | UDB 158 | UDB 166 | UDB 174 | UDB 182 | UDB 190 |
| G | UDB 103 | UDB 111 | UDB 119 | UDB 127 | UDB 135 | UDB 143 | UDB 151 | UDB 159 | UDB 167 | UDB 175 | UDB 183 | UDB 191 |
| H | UDB 104 | UDB 112 | UDB 120 | UDB 128 | UDB 136 | UDB 144 | UDB 152 | UDB 160 | UDB 168 | UDB 176 | UDB 184 | UDB 192 |

2.2 Barcode Pooling 指南

- ◆ DNBSSEQ测序平台, MGISEQ测序平台推荐每次保证测序碱基平衡, 双端独立标签引物接头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。说明书中对于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)
- ◆ 如遭遇特殊情况(如1个孔位的试剂不足), 以至于无法满足常规Pooling至少有1组barcode组合的要求, 或当样本数据量要求不相同, 则需要通过对每测序cycle下各碱基含量进行计算来确定Pooling方案。需遵循在一条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%(见表7与表8)

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+其他列任意 1 个 barcode |
| 8X+2 | 使用 X 列 barcode+其他列任意 2 个 barcode |
| 8X+3 | 使用 X 列 barcode+其他列任意 3 个 barcode |
| 8X+4 | 使用 X 列 barcode+其他列任意 4 个 barcode |
| 8X+5 | 使用 X 列 barcode+其他列任意 5 个 barcode |
| 8X+6 | 使用 X 列 barcode+其他列任意 6 个 barcode |
| 8X+7 | 使用 X 列 barcode+其他列任意 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 |

表7 正确成组的 barcode Pooling 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8 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 碱基占比 (%) | 33.3 | 33.3 | 22.2 | 22.2 | 22.2 | 33.3 | 22.2 | 22.2 | 22.2 | 0 |
| T 碱基占比 (%) | 22.2 | 0 | 22.2 | 22.2 | 22.2 | 33.3 | 22.2 | 33.3 | 22.2 | 33.3 |
| C 碱基占比 (%) | 0 | 33.3 | 33.3 | 22.2 | 22.2 | 0 | 22.2 | 22.2 | 33.3 | 33.3 |
| G 碱基占比 (%) | 44.4 | 33.3 | 22.2 | 33.3 | 33.3 | 33.3 | 33.3 | 22.2 | 22.2 | 33.3 |

联系我们

生产企业: 深圳华大智造科技股份有限公司

生产地址: 深圳市盐田区北山路 146 号北山工业区 11 栋 2 楼, 518083

客服电话: 4000-966-988

技术支持: MGI-service@mgi-tech.com

网 址: www.mgi-tech.com



官方微信