MGIEasy

外显子组酶切文库制备试剂套装使用说明书

货号：1000009658（16 RXN）

试剂盒版本号：V2.1

说明书版本号：B3

仅供科研使用

深圳华大智造科技股份有限公司 版权所有

版本历史

说明书版本	试剂盒版本	修订日期	修订内容摘要
B3	V2.1	2021 年 4 月	◆ 试剂盒版本 V2.0 升级成 V2.1 ◆ 更改 3.1 步骤打断酶的组分（货号不同）及打断方式（体积、温度、时间） ◆ 更改 3.2 步骤磁珠纯化条件
B2	V2.0	2021 年 1 月	◆ 更新公司联系信息
B1	V2.0	2020 年 7 月	◆ 变更公司名称为"深圳华大智造科技股份有限公司" ◆ 省略部分定量步骤
B0	V2.0	2019 年 8 月	◆ 试剂盒版本 V1.0 升级成 V2.0 ◆ 更改打断酶的组分(货号不同)及打断方式(体积、温度、时间) ◆ 增加 PE150 建库条件
A0	V1.0	2019 年 7 月	◆ 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 2
1.5 试剂盒储存条件及有效期 3
1.6 客户自备物料清单 4
1.7 注意事项 5
第二章 样本要求及处理 6
2.1 样本基因组 DNA 类型 6
2.2 基因组 DNA 完整度 6
2.3 基因组 DNA 起始量 6
2.4 基因组 DNA 储存条件 6
第三章 文库构建标准流程 7
3.1 酶切打断 7
3.2 磁珠片段筛选/纯化（二选一） 9
3.3 末端修复&添加 dA 尾 11
3.4 接头连接 12
3.5 连接产物纯化 13
3.6 PCR 13
3.7 PCR 产物纯化 14
3.8 PCR 产物质检 15
3.9 杂交前准备 15
3.10 杂交捕获 17
3.11 杂交后 PCR 17
3.12 杂交后 PCR 产物纯化及定量 18
3.13 变性 19
3.14 单链环化 19
3.15 酶切消化 19
3.16 酶切消化产物纯化 21
3.17 酶切消化产物质检 21

附录 22

附录 A 关于磁珠及纯化 22
附录 B 关于 Adapter 使用 23

第一章 产品信息

1.1 产品描述

MGIEasy 外显子组酶切文库制备试剂套装是针对华大智造（MGI）高通量测序平台量身打造的的外显子文库制备试剂套装，包括 MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装和 MGIEasy 外显子组捕获辅助试剂盒。

本试剂套装可快速将 50-400 ng 人基因组 DNA 制备成 MGI 高通量测序平台专用的文库，并提供多款探针产品在 MGI 平台的捕获适配方案。本试剂盒采用高质量的酶学组成，改进型接头连接技术以及具有强扩增效率的高保真酶，显著提高文库转化率与扩增效率；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制备的稳定性和重复性

⚠ **若使用 MGI Exome V4 Probe 或 MGI Exome V5 Probe，请按照《MGIEasy 外显子组捕获 V4 探针试剂套装使用说明书》或《MGIEasy 外显子组捕获 V5 探针试剂套装使用说明书》要求进行建库和捕获操作。**

1.2 适用范围

本试剂套装适用于对人源样本进行文库构建，并辅助商业探针产品进行外显子区域捕获。

1.3 适配测序平台

构建的文库可使用以下测序平台进行测序：

BGISEQ-500RS (PE100)

MGISEQ-2000RS(PE100/PE150)

1.4 试剂盒组分

本试剂套装包含 MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装和 MGIEasy 外显子组捕获辅助试剂盒，套装中包含试剂盒、货号、组分信息如下：

表 1 MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂套装（16 RXN）(货号：1000006987）

试剂盒种类	组分信息	管盖颜色	规格及数量
MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂盒 货号：1000005254	Frag Buffer II	绿色	160 μL/支× 1 支
	Frag Enzyme II	绿色	80 μL/支× 1 支
	ERAT Buffer	橙色	114 μL/支× 1 支
	ERAT Enzyme Mix	橙色	47 μL/支× 1 支
	Ligation Buffer	红色	375 μL/支× 1 支
	DNA Ligase	红色	26 μL/支× 1 支
	PCR Enzyme Mix	蓝色	400 μL/支× 1 支
	PCR Primer Mix	蓝色	96 μL/支× 1 支
MGIEasy DNA Adapters-16（管式）试剂盒 货号：1000005284	DNA Adapters	白色	10 μL/支× 16 支
MGIEasy DNA 纯化磁珠试剂盒 货号：1000005278	DNA Clean Beads	白色	8 mL/支× 1 支
	TE Buffer	白色	4 mL/支× 1 支
MGIEasy 环化模块 货号：1000005260	Splint Buffer	紫色	186 μL/支× 1 支
	DNA Rapid Ligase	紫色	8 μL/支× 1 支
	Digestion Buffer	白色	23 μL/支× 1 支
	Digestion Enzyme	白色	42 μL/支× 1 支
	Digestion Stop Buffer	白色	120 μL/支× 1 支

表 2 MGIEasy 外显子组捕获辅助试剂盒（16 RXN）(货号：1000007743）

试剂盒种类	组分信息	管盖颜色	规格及数量
MGIEasy 外显子组捕获辅助试剂盒 货号：1000007743	Post-PCR Enzyme Mix	蓝色	800 μL/支× 1 支
	PCR Primer Mix	蓝色	96 μL/支× 1 支
	Block 3	黄色	16 μL/支× 1 支
	Block 4	黄色	160 μL/支× 1 支

1.5 试剂盒储存条件及有效期

MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂盒

- 储存温度：-25°C~-18°C
- 有效期：见试剂盒标签
- 运输条件：干冰运输

MGIEasy DNA Adapters 试剂盒

- 储存温度：-25°C~-18°C
- 有效期：见试剂盒标签
- 运输条件：干冰运输

MGIEasy 环化模块

- 储存温度：-25°C~-18°C
- 有效期：见试剂盒标签
- 运输条件：干冰运输

MGIEasy 外显子组捕获辅助试剂盒

- 储存温度：-25°C~-18°C
- 有效期：见试剂盒标签
- 运输条件：干冰运输

MGIEasy DNA 纯化磁珠

- 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

*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

表 3　客户自备物料清单

仪器	移液器 漩涡混匀仪 小型离心机 磁力架 DynaMag^{TM-2}（Thermo Fisher, Cat. No. 12321D）或同类产品 PCR 仪 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® ssDNA Assay Kit (Invitrogen, Cat. No. Q10212) Qubit® dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen, Cat. No. Q32854) 安捷伦高灵敏度 DNA 分析试剂盒（Agilent, Cat. No. 5067-4626) 或 DNA 分析试剂盒（Agilent, Cat. No. 5067-1504) 商业探针杂交所需的试剂盒 探针结合磁珠
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) 2.0 mL 离心管（Axygen, Cat. No. MCT-200-C）或同类产品 Qubit® Assay Tubes (Invitrogen, Cat. No. Q32856）或 0.5 mL Thin Wall PCR Tubes (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。
- 文库制备流程推荐根据具体的实验设计、样本特征、测序应用和设备进行调整和优化。本说明书提供的实验流程是通用的，可根据需要调整反应参数，以优化性能、效率。
- 试剂套装各组分使用前提前取出，将 Enzyme 瞬时离心后置于冰上待用，其他组分于室温解冻。解冻后上下颠倒数次充分混匀，瞬时离心后置于冰上待用。
- 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 产物因操作不当极容易产生气溶胶污染，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；并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。
- 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。
- 所有样本及试剂应避免直接接触皮肤和眼睛，切勿吞咽，一旦发生这种情况立即用大量清水冲洗并及时到医院就诊。
- 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 MGI 技术支持：MGI-service@mgi-tech.com

第二章 样本要求及处理

2.1 样本基因组 DNA 类型

本试剂盒适用于人类样品提取的基因组 DNA 进行文库制备。

2.2 基因组 DNA 完整度

推荐使用完整度较好（无明显降解或轻微降解）且纯度良好（OD_{260}/OD_{280}=1.8 ~ 2.0，OD_{260}/OD_{230}＞2.0）的高质量基因组 DNA

2.3 基因组 DNA 起始量

本试剂盒适用的人基因组 DNA 起始量范围是 50-400 ng。随着基因组 DNA 量的减少，成功转换成含有接头的 DNA 片段比例会下降，若基因组 DNA 量足够，优先推荐使用 200 ng 及以上基因组 DNA（推荐浓度 ≥15 ng/μL）进行文库构建，以达到最优效果。

2.4 基因组 DNA 储存条件

本酶切试剂盒兼容的 DNA 储存 buffer 有：水、EB、0.1×TE、buffer AE、TE 等常见提取溶解 buffer。

为了防止过多的 EDTA、EGTA 等抑制剂对打断时效的影响，建议样品提取时溶于水、EB 或 0.1×TE 中，以确保打断结果一致性：

- 若 DNA 提取过程中带入其他成分复杂（高盐离子/蛋白/二价阳离子/ EDTA/ EGTA），建议在酶切打断之前使用 2 倍体积磁珠进行纯化，用水、EB 或 0.1×TE 洗脱，回收率约 90%。关于 DNA Clean Beads 的使用注意事项及纯化步骤，请参照本说明书附录 A 及步骤 3.5 或步骤 3.7。
- 若基因组 DNA 较珍贵，建议使用 50 ng 投入量，同等提取条件及溶解 buffer 的非珍贵 DNA，参考步骤 3.1 进行打断测试，取 3-5 ng 使用 Agilent 2100 对其片段分布进行检测，根据结果适当调整 30°C 反应时间使打断主带符合预期。

第三章 文库构建标准流程

本流程使用 200 ng 人基因组 DNA，酶切打断后 36 μL+12 μL 磁珠片段筛选，最终得到插入片段主带约 330 bp 的 DNA 文库，用于 PE150 测序。

若样本 DNA 投入量不同，请根据步骤 3.2 磁珠片段筛选/纯化中的表 7 和步骤 3.6 PCR 中的表 12 对磁珠纯化操作和 PCR 循环数进行调整。

3.1 酶切打断

⚠ **注意：本试剂盒酶切打断是通过控制 30°C 反应时间来控制 DNA 的片段分布，因此操作过程中请尽量保证时间和温度的精确，确保样本与 Frag Enzyme 的处理全程在冰上操作；使用前应预热 PCR 仪至反应温度附近，再将反应液放入 PCR 仪中。**

⚠ **注意：当手动处理大量的样本时，酶切打断反应的控制会变得困难。推荐先在反应管中加入稀释好的样品，再使用排枪迅速加入酶切反应液，同时确保整个加样过程在冰上进行。**

⚠ **注意：下述酶切打断步骤适用于溶于水、EB、0.1×TE 的 DNA，打断得到的 DNA 片段主带在 300 bp~500 bp 之间，适用于 PE150 测序。若是其他溶解 buffer，请自行摸索 30°C 打断时长。**

3.1.1 吸取待打断基因组 DNA 于新的 0.2 mL PCR 管中，体积应≤45 μL，不足 45 μL 部分用补充 buffer 补足（见表 4）：

表 4 DNA 样本的配制

组分	体积
DNA	X μL
补充 buffer	45-X μL
Total	45 μL

3.1.2 取出 MGIEasy 酶切 DNA 文库制备试剂盒，取出 Frag Buffer II 溶解并涡旋混匀，取出 Frag Enzyme II 上下颠倒 10 次以上至充分混匀（**禁止涡旋**），瞬时离心后置于冰上待用。

3.1.3 在冰上配制酶切打断反应液（见表 5），用移液器吹打 10 次以上至完全混匀（**禁止涡旋**），瞬时离心后置于冰上待用：

表 5　酶切打断反应液的配制

组分	体积
Frag Buffer II	10 μL
Frag Enzyme II	5 μL
Total	15 μL

3.1.4　用移液器吸取 15 μL 配制好的酶切打断反应液加入步骤 3.1.1 的 PCR 管中，将移液器调至 55 μL，吹打 10 次以上至完全混匀，瞬时离心将反应液收集至管底。

3.1.5　提前按照表 6 反应条件设置 PCR 程序并运行，待温度降至 4°C 后，将步骤 3.1.4 所述 PCR 管置于 PCR 仪上，跳过第一步（4°C Hold）开始 30°C 反应。若 PCR 仪不能实现跳过步骤，可设置 4°C 1 min，待温度降至 4°C 后暂停，放入样本后开始。

表 6　酶切打断反应条件

温度	时间
热盖	On
4°C	Hold
30°C	8 min
65°C	15 min
4°C	Hold

3.1.6　反应结束后，瞬时离心将反应液收集至管底。

注意：初次进行样本酶切打断时，建议从 3.1.6 样品中取 3~5 ng 样本进行 1.8x 磁珠纯化（5μL TE buffer 洗脱，具体步骤参考 3.2.2），安捷伦高灵敏度 DNA 分析试剂盒分析，正常的 PE150 打断片段大小应在 100 bp~1000 bp，主峰 300 bp~500 bp（如图 1）。若片段过大或过小，建议重新调整 30°C 反应时长，进行酶切打断条件测试。

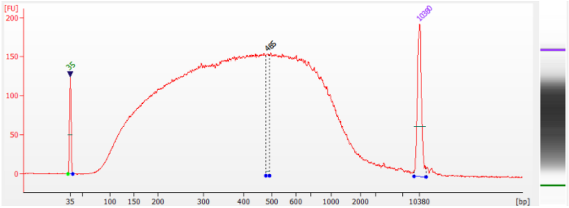

图 1　标准流程酶切打断后产物（1.8x 磁珠纯化）Agilent 2100 Bioanalyzer 检测结果

3.2 磁珠片段筛选/纯化（二选一）

⚠ **注意：操作前请仔细阅读附录 A 关于磁珠及纯化。**

⚠ **注意：打断后 DNA 分布范围较宽，建议进行片段筛选以控制最终文库片段集中度。若样本量>100 ng，建议进行磁珠片段筛选（见步骤 3.2.1）；若样本起始量较低（≤100 ng）或者降解程度较高（如 FFPE 样本），推荐打断后进行磁珠纯化（见步骤 3.2.2），磁珠使用量如下表 7 所示：**

表 7 打断后（60 μL）纯化条件推荐

基因组 DNA 起始量	磁珠片段筛选/纯化	PE150 磁珠用量
>100 ng	磁珠片段筛选	36 μL+12 μL
50~100 ng	纯化	60 μL

3.2.1 磁珠片段筛选（方案一）

下述步骤是使用36 μL+12 μL磁珠对打断产物进行片段筛选，得到主带≈330 bp的产物，适用于PE150，其他筛选方案请参考表7。

3.2.1.1 提前 30 min 取出 DNA Clean Beads 置于室温，使用前充分震荡混匀。

3.2.1.2 用移液器吸取 36 μL DNA Clean Beads 至步骤 3.1.6 的 60 μL 打断产物中，充分混匀。

3.2.1.3 室温孵育 5 min。

3.2.1.4 瞬时离心，将离心管置于磁力架上，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。**

3.2.1.5 用移液器吸取 12 μL DNA Clean Beads 至步骤 3.2.1.4 的 96 μL 上清中，充分混匀。

3.2.1.6 室温孵育 5 min。

3.2.1.7 瞬时离心，将离心管置于磁力架上，静置 2-5 min 至液体澄清，用移液器小心吸取并丢弃上清。

3.2.1.8 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 后小心吸取并丢弃上清。

3.2.1.9 重复步骤 3.2.1.8，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。

3.2.1.10 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。

3.2.1.11 将离心管从磁力架上取下，加入 43 μL TE Buffer 进行 DNA 洗脱，用移液器轻轻吸打至少 10

次至完全混匀。

3.2.1.12 室温孵育 5 min。

3.2.1.13 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 41 μL 上清液转移到新的 0.2 mL PCR 管中。

3.2.1.14 磁珠片段筛选后的产量小于 100 ng，可直接进行步骤 3.3

注意：磁珠片段筛选的回收率大约在 10%~20%。例如，按照文库构建标准流程，投入 200 ng 人基因组 DNA 进行酶切打断，用 36 μL+12 μL 磁珠片段筛选后，可得到总量约 20~40 ng 的产物。若产物回收率过低，可能是片段筛选过程中的损失过多，会影响后续的建库成功率和数据表现。

3.2.2 磁珠纯化（方案二）

下述步骤是使用 60 μL 磁珠对打断产物进行纯化，得到主带≈330 bp 的产物，适用于 PE150 测序，其他筛选方案请参考表 7。

3.2.2.1 用移液器吸取 60 μL DNA Clean Beads 至步骤 3.1.6 的 60 μL 打断产物中，充分混匀。

3.2.2.2 室温孵育 5 min。

3.2.2.3 瞬时离心，将离心管置于磁力架上，静置 2-5 min 至液体澄清，用移液器小心吸取并丢弃上清。

3.2.2.4 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 后小心吸取并丢弃上清。

3.2.2.5 重复步骤 3.2.2.4，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。

3.2.2.6 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。

3.2.2.7 将离心管从磁力架上取下，加入 43 μL TE Buffer 进行 DNA 洗脱，用移液器轻轻吸打至少 10 次至完全混匀。

3.2.2.8 室温孵育 5 min。

3.2.2.9 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 41 μL 上清液转移到新的 0.2 mL PCR 管中。

3.2.2.10 预计产量＞100ng 时，需使用 Qubit® dsDNA HS Assay Kit 或 Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA Assay Kit 等双链 DNA 荧光定量试剂盒，按照定量试剂盒的操作说明对打断纯化后产

物进行定量。

注意：磁珠纯化的回收率大约在 40~60%。若产物回收率过低，可能是片段筛选过程中的损失过多，会影响后续的建库成功率和数据表现。

停止点：磁珠片段筛选/纯化后产物，可置-20°C 冰箱储存。

3.3 末端修复&添加 dA 尾

3.3.1 根据磁珠片段筛选/纯化后 DNA 定量结果，若总量≤ 100 ng，则可全部投入进行末端修复；若总量≥100 ng，则建议取 100 ng DNA 进行末端修复。体积应≤40 μL，不足 40 μL 部分用 TE Buffer 补足。

3.3.2 在冰上配制末端修复反应液（见表 8）。

表 8 末端修复反应&添加 dA 尾反应液的配制

组分	体积
ERAT Buffer	7.1 μL
ERAT Enzyme Mix	2.9 μL
Total	10 μL

3.3.3 用移液器吸取 10 μL 配制好的末端修复反应液加入磁珠片段筛选或纯化后的 40 μL 样本中，涡旋震荡 3 次，每次 3s，瞬时离心将反应液收集至管底。

3.3.4 将步骤 3.3.3 所述 PCR 管置于 PCR 仪上，按照表 9 中的条件进行反应。

表 9 末端修复反应&添加 dA 尾反应条件

温度	时间
热盖	On
37°C	30 min
65°C	15 min
4°C	Hold

3.3.5 反应结束后，瞬时离心将反应液收集至管底。

注意：不建议在此处停止，请继续做步骤 3.4。如果必须停止，末端修复产物可以放在-20°C 冰箱过夜，但产量可能会下降 20%左右。

3.4 接头连接

注意：操作前请仔细阅读附录 B 关于 Adapter 使用。

3.4.1 参照 MGIEasy DNA Adapters 说明书使用规则（附录 B 关于 Adapter 使用），在步骤 3.3.5 的 PCR 管中加入 5 μL 对应的 MGIEasy DNA Adapters，涡旋震荡 3 次，每次 3 s，瞬时离心将反应液收集至管底。

3.4.2 在冰上配制接头连接反应液（见表 10）。

表 10 接头连接反应液的配制

组分	体积
Ligation Buffer	23.4 μL
DNA Ligase	1.6 μL
Total	25μL

3.4.3 用移液器缓慢吸取 25 μL 配制好的接头连接反应液加入步骤 3.4.1 的 PCR 管中，涡旋震荡 6 次，每次 3 s，瞬时离心将反应液收集至管底。

注意：接头连接反应液较粘稠，操作时请慢吸慢放，确保加液量正确；涡旋震荡多次确保完全混匀。

3.4.4 将步骤 3.4.3 所述 PCR 管置于 PCR 仪上，按照表 11 中的条件进行反应。

表 11 接头连接反应条件

温度	时间
热盖	On
23°C	30 min
4°C	Hold

3.4.5 反应结束后，瞬时离心将反应液收集至管底。

3.4.6 加入 20 μL TE Buffer 至总体系 100 μL，全部转移到新的 1.5 mL 离心管中。

停止点：接头连接后产物可暂时放置-20°C 冰箱，不超过 16 h。

3.5 连接产物纯化

注意：操作前请仔细阅读附录 A 关于磁珠及纯化。

3.5.1　提前 30 min 取出 DNA Clean Beads 置于室温，使用前充分震荡混匀。

3.5.2　用移液器吸取 50 μL DNA Clean Beads 至步骤 3.4.6 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离心管中。

3.5.3　室温孵育 5 min。

3.5.4　将离心管瞬时离心，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。

3.5.5　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。

3.5.6　重复步骤 3.5.5，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。

3.5.7　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。

3.5.8　将离心管从磁力架上取下，加入 21 μL TE Buffer 进行 DNA 洗脱，用移液器轻轻吹打至少 10 次至所有磁珠悬浮。

3.5.9　室温下孵育 5 min。

3.5.10 将离心管瞬时离心，置于磁力架上，静置 2-5 min 至液体澄清，用移液器吸取 19 μL 上清液转移到新的 0.2 mL 离心管中。

✔ 停止点：连接产物纯化后，可置-20°C 冰箱储存。

3.6 PCR

注意：PCR 扩增步骤需要严格控制扩增循环数。循环数不足，会导致文库产出不足；循环数过多，又会影响后续数据性能表现。表 12 给出获得 500 ng 和 1 μg PCR 产物推荐的扩增循环数。当基因组 DNA 质量较差、主带较长时，需适当提高循环数以获取足量产物。

表 12　获得 500 ng 和 1 μg PCR 产物推荐的扩增循环数

基因组 DNA （ng）	打断后磁珠片段筛选 / 纯化	对应产量所需循环数	
		500 ng	1 μg
400 ng	磁珠片段筛选	4-6	6-8
200 ng	磁珠片段筛选	5-7	7-9
100 ng	纯化	5-7	7-9
50 ng	纯化	7-9	9-11

3.6.1　在冰上配制 PCR 反应液（见表 13）。

表 13　PCR 反应液的配制

组分	体积
PCR Enzyme Mix	25 μL
PCR Primer Mix	6 μL
Total	31 μL

3.6.2　用移液器吸取 31 μL 配制好的 PCR 反应液加入步骤 3.5.10 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。

3.6.3　将步骤 3.6.2 所述 PCR 管置于 PCR 仪上，按照表 14 的条件进行 PCR 反应。

表 14　PCR 扩增反应条件

温度	时间	循环数
热盖	on	
95°C	3 min	1 循环
98°C	20 s	
60°C	15 s	8 循环
72°C	30 s	
72°C	10 min	1 循环
4°C	Hold	

⚠ **注意:表中的循环数以 200 ng 建库起始量为标准，不同的起始量请参考表 12 进行调整。**

3.6.4　反应结束后，瞬时离心将反应液收集至管底，吸取全部反应液转移到新的 1.5 mL 离心管中。

3.7 PCR 产物纯化

⚠ **注意：操作前请仔细阅读附录 A 关于磁珠及纯化。**

3.7.1　提前 30 min 取出 DNA Clean Beads 置于室温，使用前充分震荡混匀。

3.7.2　吸取 50 μL DNA Clean Beads 至步骤 3.6.4 的 PCR 产物中，充分震荡混匀至所有磁珠悬浮。

3.7.3　室温孵育 5 min。

3.7.4　将离心管瞬时离心，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。

3.7.5　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。

3.7.6　重复步骤 3.7.5，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。

3.7.7 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。

3.7.8 将离心管从磁力架上取下，加入 32 μL TE Buffer 进行 DNA 洗脱，用移液器轻轻吹打至少 10 次至所有磁珠悬浮。

3.7.9 室温下孵育 5 min。

3.7.10 将离心管瞬时离心，置于磁力架，静置 2-5 min 至液体澄清，将 30 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，待杂交捕获。**

3.8 PCR 产物质检

3.8.1 使用 Qubit® dsDNA HS Assay Kit 或 Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA Assay Kit 等双链 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 产物的产量达到相应商业捕获探针产品的要求。

3.8.2 通过 Bioanalyzer、Tapestation (Agilent Technologies)；LabChip® GX、GXII、GX Touch (PerkinElmer)； Fragment Analyzer™ (Advanced Analytical)等基于电泳分离原理的设备对 PCR 纯化后产物进行片段分布检测。图 2 为标准实验流程 PCR 纯化产物的 Agilent 2100 Bioanalyzer 检测结果。

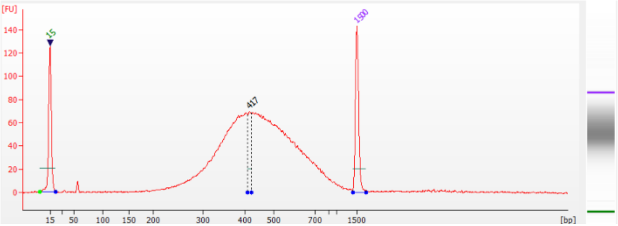

图 2 标准流程 PCR 纯化后产物 Agilent 2100 Bioanalyzer 检测结果

3.9 杂交前准备

- 杂交捕获前，取出 MGIEasy 外显子组捕获辅助试剂盒中 Block 3/Block 4，室温或者冰上融化后备用，参考所用探针试剂盒的操作说明进行杂交捕获，Block 3/Block 4 为 MGI 高通量测序平台专用的接头 Block，用于替换其他测序平台的接头 Block。

- 杂交捕获后，取出 MGIEasy 外显子组捕获辅助试剂盒中 Post-PCR Enzyme Mix/PCR Primer Mix，室温或者冰上融化后参考步骤 3.11 进行探针杂交洗脱后的扩增。

注意：若使用 MGI Exome V4 Probe 或 MGI Exome V5 Probe，则需分别搭配 MGIEasy 外显子组捕获 V4 探针试剂套装或 MGIEasy 外显子组捕获 V5 探针试剂套装，并参考《MGIEasy 外显子组捕获 V4 探针试剂套装使用说明书》或《MGIEasy 外显子组捕获 V5 探针试剂套装使用说明书》完成杂交捕获流程；

注意：若使用其他商业探针，则需参考其对应的杂交捕获流程，将其中针对非 MGI 平台所用的接头封闭序列替换为本试剂盒中的 Block 3 和 Block 4，推荐体积和替换方案如下：

表 15 针对主流商业探针推荐 Block3 和 Block4 使用体积和替换方案

商业探针	Block 3 体积	Block 4 体积	商业探针杂交试剂盒中需替换的组份
MGI Exome V4 Probe	1 μL	10 μL	无
MGI Exome V5 Probe	1 μL	10 μL	无
SureSelect Human All Exon V6 等同类 SureSelect 系列探针	1 μL	10 μL	SureSelect Indexing Block #3
SeqCap® EZ Human Exome Probes v3.0	1 μL	10 μL	SeqCap HE Universal Oligo; SeqCap HE Index 2 Oligo; SeqCap HE Index 4 Oligo; SeqCap HE Index 6 Oligo; SeqCap HE Index 8 Oligo
xGen Exome Research Panel	1 μL	10 μL	xGen® Universal Blocking Oligo (1); xGen® Universal Blocking Oligo (2); xGen® Universal Blocking Oligo (3)

注意：不同主流商业探针的杂交后 PCR 循环数推荐如下：

表 16 针对主流商业探针推荐杂交后 PCR 循环数

商业探针	杂交后 PCR 循环数
MGI Exome V4 Probe	12
MGI Exome V5 Probe	12
SeqCap EZ Human Exome Probes v3.0	12
xGen Exome Research Panel	6 (12 pool)–10 (1 pool)
SureSelect Human All Exon V6 等同类 SureSelect 系列探针	12

以下 3.9-3.11 步骤是以 NimbleGen® SeqCap EZ 捕获流程为例进行的标准实验操作流程：

3.9.1 根据杂交所需要的样本投入量，按照表 12 推荐的 PCR cycle 数进行扩增，并根据附录 B 关于 Adapter 使用的接头使用规则合理选择建库接头。然后根据 SeqCap EZ Library SR User's Guide 操作说明中要求的 PCR 产物投入量进行杂交。

3.10 杂交捕获

3.10.1 参照 SeqCap EZ Library SR User's Guide Chapter 5 Step.3，将 MGIEasy 外显子组捕获辅助试剂盒中的 Block 3 和 Block 4 组份替换 Step 4 中 SeqCap HE Universal Oligo 和 SeqCap HE Index 2/4/6/8 Oligo。Block3 和 Block4 使用体积和替换方案参考本说明书表 15。

⚠ **注意：如果 Block 3 与 Block 4 的使用体积高于探针试剂盒说明书中被替换试剂的使用体积，则可将该两个组份在样品浓缩前加入，通过浓缩控制反应体系的体积。（如本例中，RSS_SeqCap_EZ_UGuide_v5.4 要求将 Multiplex Hybridization Enhancing Oligo Pool 加入样品中一并进行浓缩，控制体积。）**

3.10.2 参照 RSS_SeqCap_EZ_UGuide_v5.4 Chapter 5-6 进行杂交捕获与洗脱。本说明书未提及的试剂均以探针产品说明书为准。

⚠ **注意：洗脱后进行下一步杂交后 PCR 时要求含磁珠样品体积为 44 μL， 如探针产品说明书中要求的扩增样品体积小于 44 μL，使用 NF water 将样品体积补为 44 μL。如探针产品说明书中要求的扩增样品体积大于 44 μL，需要将洗脱液体积减少为 44 μL。**

3.11 杂交后 PCR

3.11.1 取出 MGIEasy 外显子组捕获辅助试剂盒，在冰上配制杂交后 PCR 反应液（见表 17）。

表 17 杂交后 PCR 反应液的配制

组分	单个反应体积
Post-PCR Enzyme Mix	50 μL
PCR Primer Mix	6 μL
Total	56 μL

3.11.2 用移液器吸取 56 μL 配制好的杂交后 PCR 反应液加入 44 μL 含有磁珠捕获样品的 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。

3.11.3 将步骤 3.11.2 所述 PCR 管置于 PCR 仪上，按照表 18 的条件进行杂交后 PCR 反应。

表 18　杂交后 PCR 反应条件

温度	时间	循环数
热盖	On	
95°C	3 min	1 循环
98°C	20 s	
60°C	15 s	X 循环
72°C	30 s	
72°C	10 min	1 循环
4°C	Hold	

注意： 表中"X"处 cycle 数可参考本说明书表 16，如本例中"X"为 12。

3.11.4 反应结束后，瞬时离心将反应液收集至管底。

3.11.5 将 PCR 管置于磁力架上，静置 2-5 min 至液体澄清，用移液器吸取 100 μL 上清液转移到新的 1.5 mL 离心管中。

3.12 杂交后 PCR 产物纯化及定量

注意：操作前请仔细阅读附录 A 关于磁珠及纯化。

3.12.1 提前 30 min 取出 DNA Clean Beads 置于室温，使用前充分震荡混匀。

3.12.2 吸取 100 μL DNA Clean Beads 至步骤 3.11.5 的 100 μL 杂交后 PCR 产物中，充分震荡混匀至所有磁珠悬浮。

3.12.3 室温孵育 5 min。

3.12.4 将离心管瞬时离心，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。

3.12.5 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。

3.12.6 重复步骤 3.10.5，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。

3.12.7 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。

3.12.8 将离心管从磁力架上取下，加入 32 μL TE Buffer 进行 DNA 洗脱，用移液器轻轻吹打至少 10 次至所有磁珠悬浮。

3.12.9 室温下孵育 5 min。

3.12.10 将离心管瞬时离心，置于磁力架上，静置 2-5 min 至液体澄清，用移液器吸取 30 μL 上清液转移到新的 1.5 mL 离心管中。

3.12.11 使用 Qubit® dsDNA HS Assay Kit 或 Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA Assay Kit 等双链 DNA 荧光定量试剂盒，按照定量试剂盒的操作说明对杂交后 PCR 纯化后产物进行定量，要求最终杂交后 PCR 产物的摩尔产量≥1 pmol，请参照如下公式 1 进行计算，例如：主带 350 bp 的打断产物，PCR 产物主片段大小 430 bp，其产量应达到 280 ng。如需将多个样本混合测序，建议根据 MGIEasy DNA Adapters 说明书使用规则设计混合方案（参照附录 B），在定量后进行不同 Adapters 样本混合，混合后总量为 1 pmol，总体积≤48 μL。

公式 1 双链 DNA 分子质量与摩尔数之间的换算

$$1\ \text{pmol PCR 产物对应的质量(ng)} = \frac{\text{DNA 主片段大小(bp)}}{1000\ \text{bp}} \times 660\ \text{ng}$$

✔ **停止点：PCR 纯化后产物可置-20°C 冰箱储存，待变性环化。**

3.13 变性

3.13.1 根据 PCR 产物的主片段分布，取 1 pmol PCR 产物至新的 0.2 mL PCR 管中，用 TE Buffer 补充至总体积 48 μL。

3.13.2 将步骤 3.13.1 所述 PCR 管置于 PCR 仪上，按照表 19 的条件进行反应：

表 19 变性反应条件

温度	时间
热盖	On
95°C	3 min

3.13.3 反应结束后，立即将步骤 3.13.2 所述 PCR 管转移到冰上，静置 2 min 后瞬时离心。

3.14 单链环化

3.14.1 取出 MGIEasy 环化模块，在冰上配制单链环化反应液（见表 20）。

表 20 单链环化反应液的配制

组分	体积
Splint Buffer	11.6 μL
DNA Rapid Ligase	0.5 μL
Total	12.1 μL

3.14.2 用移液器吸取 12.1 μL 配制好的单链环化反应液加入步骤 3.13.3 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。

3.14.3 将步骤 3.14.2 中的 PCR 管置于 PCR 仪上，按照表 21 的条件进行反应。之后，提前准备表 22 的酶切消化反应液。

表 21 单链环化反应条件

温度	时间
热盖	On
37°C	30 min
4°C	Hold

3.14.4 反应结束后，将 PCR 管瞬时离心并置于冰上，立即进入下步反应。

3.15 酶切消化

3.15.1 在步骤 3.14.3 反应时，提前在冰上配制酶切消化反应液（见表 22）。

表 22 酶切消化反应液的配制

组分	体积
Digestion Buffer	1.4 μL
Digestion Enzyme	2.6 μL
Total	4.0 μL

3.15.2 用移液器吸取 4 μL 配制好的酶切消化反应液加入步骤 3.14.4 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。

3.15.3 将步骤 3.15.2 所述 PCR 管置于 PCR 仪上，按照表 23 的条件进行反应。

表 23 酶切消化反应条件

温度	时间
热盖	On
37°C	30 min
4°C	Hold

3.15.4 反应结束后，瞬时离心将反应液收集至管底。

3.15.5 立即向 PCR 管中加入 7.5 μL Digestion Stop Buffer，涡旋震荡 3 次，每次 3 s，瞬时离心将反应液收集至管底，吸取全部反应液转移到新的 1.5 mL 离心管中。

3.16 酶切消化产物纯化

⚠ **注意：操作前请仔细阅读附录 A 关于磁珠及纯化。**

3.16.1 提前 30 min 取出 DNA Clean Beads 置于室温，使用前充分震荡混匀。

3.16.2 吸取 170 μL DNA Clean Beads 至步骤 3.15.5 的酶切消化产物中，用移液器轻轻吹打至少 10 次至所有磁珠悬浮，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。

3.16.3 室温孵育 10 min。

3.16.4 将离心管瞬时离心，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。

3.16.5 保持离心管置于磁力架上，加入 500 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。

3.16.6 重复步骤 3.16.5，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。

3.16.7 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。

3.16.8 将离心管从磁力架上取下，加入 22 μL TE Buffer 进行 DNA 洗脱，用移液器轻轻吹打至少 10 次至所有磁珠悬浮。

3.16.9 室温下孵育 10 min。

3.16.10将离心管瞬时离心，置于磁力架上，静置 2-5 min 至液体澄清，将 20 μL 上清液转移到新的 1.5 mL 离心管中。

✔ **停止点：酶切消化纯化后产物，可置-20°C 冰箱储存。**

3.17 酶切消化产物质检

使用Qubit® ssDNA Assay Kit荧光定量试剂盒，按照定量试剂盒的操作说明对酶切消化纯化后产物进行定量。最终要求酶切消化产物产量 /酶切消化反应投入量≥7%。例如：主带350 bp的打断产物，PCR产物主片段大小为430 bp，投入280 ng进行环化，其酶切消化产物产量应达到19.5 ng。

附录

附录 A 关于磁珠及纯化

本试剂套装推荐使用套装内的 MGIEasy DNA 纯化磁珠试剂盒（MGI, Cat. No. 1000005278）的 DNA Clean beads 或 AMPure® XP （Agencourt, Cat. No. A63882）进行磁珠纯化。如果使用其他品牌的磁珠，纯化磁珠比例可能需要重新摸索。

磁珠使用前注意事项

- 磁珠使用前，提前 30 min 从 4°C 取出，涡旋混匀且置于室温，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。
- 磁珠使用量直接影响纯化得到的 DNA 片段的下限长度。磁珠用量越高，纯化得到的 DNA 片段的下限长度越小。

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 TE Buffer 补齐体积，再用推荐磁珠用量进行纯化。
- 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 2-3 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，最后可残留 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 TE Buffer 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。

附录 B 关于 Adapter 使用

- 本试剂套装提供 MGIEasy DNA Adapters-16（管式）试剂盒。该试剂盒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，经过反复实验测试，挑选了最佳的 Adapter 组合，但 Adapter 编号不连续。为保证最佳效果，使用时请详细阅读附录 B-1 的试剂盒使用规则。
- 请勿将其置于室温以上的温度，否则易发生解链，影响使用效果。
- 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；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。
- 若有使用 MGI 其它建库试剂盒中的序号为 501-596 的接头，由于设计工艺不同，禁止混用，否则数据无法拆分。

B-1 MGIEasy DNA Adapters-16 （管式）试剂盒使用规则

- 基于碱基平衡的设计原则，在使用时需将 Adapter 成组使用，试剂盒中包含的 Adapter 具备如下的分组规则：

4 个 Adapter 成组：01-04、13-16，共计 2 组；

8 个 Adapter 成组：97-104，共计 1 组。

- 当每个样本数据量要求相同时，不同样本数目可参考表 24 所示的推荐 Barcode 组合方案：

表 24　MGIEasy DNA Adapters-16 （管式）试剂盒使用规则

样本数/lane	使用方法（举例）
1	需至少使用 1 组 Adapter： 1、加一组 4 Adapter（如 01-04），将 4 个 Adapter 取等体积混合成 mix 后加入样本中 或 2、加一组 8 Adapter（97-104），将 8 个 Adapter 取等体积混合成 mix 后加入样本中
2	需至少使用 1 组 Adapter： 1、加一组 4 Adapter（如 01-04），每个编号 Adapter 取等体积，两两组合，混合成 2 份等体积 mix，分别加入 2 个样本中（如 01-04，将 01 和 02 等体积混合成 mix 后加入样本 1 中，将 03 和 04 等体积混合成 mix 后加入样本 2 中） 或 2、加一组 8 Adapter（97-104），每个编号 Adapter 取等体积，每 4 个编号 Adapter 混合成 1 份 mix，形成 2 份等体积 mix，分别加入 2 个样本中（如将 97-100 等体积混合成 mix 后加入样本 1 中，将 101-104 等体积混合成 mix 后加入样本 2 中）
3	需至少使用 2 组 Adapter： 样本 1、2 采用上述（2 样本数/lane）方法加 Adapter，样本 3 采用上述（1 样本数/lane）方法加 Adapter，注意样本 1、2 与样本 3 需使用不同组别的 Adapter

4	需至少使用 1 组 Adapter： 1、加一组 4 Adapter（如 01-04），每个编号 Adapter 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） 或 2、加一组 8 Adapter（97-104），每个编号 Adapter 取等体积，两两组合，混合成 4 份等体积 mix，分别加入 4 个样本中（如将 97-98、99-100、101-102、103-104 分别等体积混合成 4 份 mix 后，分别依次加入样本 1、2、3、4 中）
5	需至少使用 2 组 Adapter： 样本 1-4 采用上述（4 样本数/lane）方法加 Adapter，样本 5 采用上述（1 样本数/lane）方法加 Adapter，注意样本 1-4 与样本 5 需使用不同组别的 Adapter
6	需至少使用 2 组 Adapter： 样本 1-4 采用上述（4 样本数/lane）方法加一组 Adapter，样本 5-6 采用上述（2 样本数/lane）方法加一组 Adapter，注意样本 1-4 与样本 5-6 需使用不同组别的 Adapter
7	需使用全部 3 组 Adapter，分三步操作： 1）样本 1-4 采用上述（4 样本数/lane）方法加一组 Adapter， 2）样本 5-6 采用上述（2 样本数/lane）方法加一组 Adapter， 3）样本 7，使用剩余的一组 Adapter，可以加该组内一个单 Adapter，或者加组内所有编号 Adapter 取等体积混合成的 Adapter mix 注意样本 1-4、样本 5-6、样本 7 需使用不同组别的 Adapter
8	需至少使用 1 组 Adapter： 1、加一组 8 Adapter（97-104），每个编号 Adapter 取等体积，分别加入每个样本 或 2、选取两组 4 Adapter（01-04 和 13-16），每个编号 Adapter 取等体积，每个样本加 1 个 Adapter

当样本数据量要求不相同时，需遵循在一条lane中数据量要求大于20%的样本不得使用不成组的Adapter。例如有9个样本pooling于一条lane中，其中有1个样本要求数据量为30%，此时需采用如下Barcode的方案：8个样本使用Adapter 97-104，另外一个样本不可使用单独的一个Adapter，而是要使用Adapter 01-04或Adapter 13-16。

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：深圳市盐田区北山工业区综合楼及 11 栋 2 楼
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

Doc. #：B02-115