

编号: SOP-013-B02-188



# 使用说明书

版本: 5.0

## MGIEasy 双Barcode外 显子组捕获辅助试剂盒

货号: 1000018647 (16 RXN)  
1000018648 (96 RXN)  
试剂盒版本号: V1.0

---

## 关于说明书

©2024 深圳华大智造生物电子科技有限公司 版权所有

本说明书及其包含的信息为深圳华大智造生物电子科技有限公司（以下简称华大智造）的专有保密信息，未经华大智造的书面许可，任何个人或组织不得全部或部分地对本说明书进行重印、复制、修改、传播或公布给他人。本说明书的读者为终端用户。说明书作为产品的一部分，由华大智造授权终端用户予以使用。严禁未授权的个人使用本说明书。

华大智造对本说明书不做任何种类的保证，包括（但不限于）用于特定目的的商业性和合理性的隐含保证。华大智造已经采取措施，确保本说明书的准确性。但是，华大智造对遗漏不承担责任，并保留任何对本说明书和产品进行改进以提高其可靠性、功能或设计的权利。

本说明书中的所有图片均为示意图，图片内容可能与实物有细微差异，请以购买的产品为准。

DNBSEQ™、MGISEQ™、Ambion®、Axygen®、ABI®、BioMag®、Eppendorf®、Invitrogen®、NimbleGen®、Qubit®、SeqCap®、Thermo Fisher™、xGen®，以及文中涉及的其他名称及商标属于各自所有者资产。

---

## 制造商信息

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
电话	4000-688-114
技术支持	MGI-service@mgi-tech.com
网址	www.mgi-tech.com

## 版本记录

说明书版本	试剂盒版本	日期	修订内容摘要
5.0	V1.0	2024 年 7 月	<ul style="list-style-type: none"><li>• 变更制造商信息</li><li>• 变更组分名称:Block 3和Block 4改成UDB Block 3和UDB Block 4</li><li>• 增加适配试剂盒以及测序平台</li><li>• 更新说明书风格</li></ul>
4.0	V1.0	2022 年 3 月	更新公司LOGO
A2	V1.0	2021 年 4 月	<ul style="list-style-type: none"><li>• 更新公司联系信息</li><li>• 新增双端独立标签通用试剂盒适配</li><li>• 删除附录</li></ul>
A1	V1.0	2020 年 7 月	<ul style="list-style-type: none"><li>• 变更公司名称</li><li>• 增加定量步骤</li><li>• 增加附录</li></ul>
A0	V1.0	2020 年 3 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: <https://www.mgi-tech.com/download/files>

# 目录

---

<b>1 产品信息</b>	<b>1</b>
1.1 产品描述	1
1.2 适用范围	1
1.3 适配测序平台	2
1.4 组分	2
1.5 储存与运输	2
1.6 自备物料清单	3
1.7 注意事项	4
1.8 流程	5

---

<b>2 样本要求及处理</b>	<b>6</b>
2.1 样本准备	6
2.2 样本定量与质控	6

---

<b>3 标准流程</b>	<b>7</b>
3.1 杂交前样本制备	7
3.2 杂交捕获	7
3.3 杂交后 PCR	9
3.4 杂交后 PCR 产物纯化	10
3.5 杂交后 PCR 产物质检	11

# 1 产品信息

## 1.1 产品描述

MGIEasy 双Barcode外显子组捕获辅助试剂盒作为通用捕获辅助试剂盒，可以灵活搭配 DNA 文库制备试剂盒和各类商业探针及杂交洗脱试剂盒使用，用于MGI 高通量测序平台外显子文库的构建和杂交。其中DNA 文库制备试剂盒可选择多款MGIEasy系列DNA文库制备试剂套装，商业探针及杂交洗脱试剂盒可以选择 MGIEasy 系列杂交洗脱试剂，或其他商业探针及其配套的杂交试剂。

-  提示
- 将双barcode外显子组捕获辅助试剂盒与其他产品组合以完成杂交捕获靶向富集所需的完整文库构建过程示例列在下表中。MGI提供的试剂盒组合性能优异。
  - 以下组合套装中DNA文库制备试剂盒3选1，探针及杂交洗脱试剂盒两大类中任选一套试剂盒，搭配捕获辅助试剂盒进行杂交捕获实验。

建库和杂交全流程可参考使用如下推荐组合套装：

组合方式	DNA文库制备试剂盒	探针及杂交洗脱试剂盒	捕获辅助试剂盒
1	MGIEasy 双分子标签通用文库制备试剂套装	<b>RNA探针类配套试剂：</b> MGIEasy 外显子组捕获V4探针试剂套装	MGIEasy 双Barcode外显子组捕获辅助试剂盒
2	MGIEasy 双端独立标签通用文库制备试剂套装	MGIEasy 外显子组捕获V5探针试剂套装	
3	MGIEasy Fast 酶切文库制备试剂套装 V2.0 和MGIEasy 双 barcode 环化试剂盒	其他商业探针及杂交洗脱试剂盒 <b>DNA探针类配套试剂：</b> MGIEasy 快速杂交试剂盒和其他商业DNA探针	

## 1.2 适用范围

本试剂盒用于辅助人源样本外显子区域的杂交捕获，适用于 Roche/IDT 等公司的 DNA 探针产品，MGI/Agilent 等公司的 RNA 探针产品，基于 MGI 高通量测序平台进行外显子文库的构建。

## 1.3 适配测序平台

构建的文库可用于 MGI 以下平台及测序类型：

- MGISEQ-2000RS ( PE100/PE150 )
- DNBSEQ-T7RS ( PE100/PE150 )
- DNBSEQ-G99RS (PE150)

## 1.4 组分

本试剂盒包含有 2 个规格，分别是16 Rxn 和 96 Rxn，试剂盒的货号 and 组分信息见下表。

试剂盒中包含信息卡片，可通过卡片信息登录MGI官网，下载相应说明书及SDS文件。

**表 1 MGIEasy 双barcode外显子组捕获辅助试剂盒 (16 RXN) (货号: 1000018647)**

试剂盒及货号	组分信息	管盖颜色	规格及数量
MGIEasy 双barcode外显子组捕获辅助试剂盒 货号: 1000018647	Post-PCR Enzyme Mix	 蓝色	800 μL/支 × 1
	Dual Barcode PCR Primer Mix	 蓝色	96 μL/支 × 1
	UDB Block 3	 黄色	16 μL/支 × 1
	UDB Block 4	 黄色	16 μL/支 × 1

**表 2 MGIEasy 双barcode外显子组捕获辅助试剂盒 (96 RXN) (货号: 1000018648)**

试剂盒及货号	组分信息	管盖颜色	规格及数量
MGIEasy 双barcode外显子组捕获辅助试剂盒 货号: 1000018648	Post-PCR Enzyme Mix	 蓝色	1200 μL/支 × 4
	Dual Barcode PCR Primer Mix	 蓝色	576 μL/支 × 1
	UDB Block 3	 黄色	96 μL/支 × 1
	UDB Block 4	 黄色	96 μL/支 × 1

## 1.5 储存与运输

MGIEasy 双Barcode外显子组捕获辅助试剂盒

- 储存温度: -25 °C~-15 °C
- 运输温度: -80 °C~-15 °C

- 有效期: 见试剂盒标签
  -  提示
    - 若使用干冰进行运输, 请在收到货物后检查是否有剩余的干冰。
    - 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 自备物料清单

表 3 MGI 产品订购信息

名称	规格	货号
MGIEasy 双分子标签通用文库制备试剂套装	16 RXN	1000018643
	96 RXN	1000018644
MGIEasy 双端独立标签通用文库制备试剂套装	16 RXN	1000022803
	96 RXN	1000022804
	192 RXN	1000022805
MGIEasy 外显子组捕获 V4 探针试剂套装	16 RXN	940-000186-00
MGIEasy 外显子组捕获 V5 探针试剂套装	16 RXN	940-000187-00
MGIEasy Fast 酶切文库制备试剂套装	16 RXN	940-001193-00
	96 RXN	940-001194-00
	192 RXN	940-001196-00
MGIEasy 快速杂交试剂盒	16 RXN	940-001974-00
	96 RXN	940-001973-00
MGIEasy DNA 纯化磁珠试剂盒	50 mL	1000005279
MGIEasy 双 Barcode 环化试剂盒	16 RXN	1000020570

表 4 设备清单

名称	推荐品牌
漩涡混匀仪	/
小型离心机	/
移液器	/
PCR仪	/
96 孔板磁力架	BioMag, Cat. No. BMB-96 或同等功能仪器
Thermomixer或水浴锅等恒温设备	Thermo Fisher 或同等功能仪器
Nutator或其他可旋转混匀设备	/
真空离心浓缩仪	Eppendorf, Cat. No. 5305000398 或同等功能仪器

表 5 试剂耗材清单

名称	推荐品牌
Nuclease Free (NF) water	Ambion, Cat. No. AM9937 或同类产品
M-280 磁珠	Invitrogen, Cat. No. 112.06D
其他探针试剂盒所需试剂	/
移液器吸头	/
1.5 mL 离心管	/
2.0 mL 离心管	Axygen, Cat. No. MCT-200-C 或同类产品
0.2 mL PCR 管	Axygen, Cat. No. PCR-02-C 或同类产品
0.2 mL八连管盖	Axygen, Cat. No. PCR-02CP-C 或同类产品
96 孔 PCR 板	Axygen, Cat. No. PCR-96M2-HS-C 或同类产品
滤芯吸头	Axygen, Cat. No. TF-100 或同类产品
高透光度粘性盖膜	ABI, Cat. No. 4306311
其他探针试剂盒所需耗材	/

## 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。
- 实验前请熟悉需使用的各种仪器的注意事项并掌握其操作方法。
- 本说明书提供的实验流程是通用的，实际可根据具体的实验设计、样本特征、测序应用和设备进行实验流程、反应参数的调整，以优化性能和效率。
- 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。
- 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。如果 PCR 仪无法设置热盖温度，也可保持在 105 °C。
- PCR产物如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，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；不同功能区使用其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。
- 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。
- 若有其他疑问，请联系 MGI 技术支持：MGI-service@mgi-tech.com

## 1.8 流程

序号	流程	总时长	手工操作时长
3.1	杂交前样本制备	2 ~ 6 h	/
3.2	杂交捕获	4 ~ 28 h	/
3.3	杂交后 PCR	40 ~ 50 min	10 min
3.4	杂交后 PCR产物纯化 	30 ~ 40 min	20 ~ 30 min
3.5	杂交后 PCR产物质检 	15 ~ 60 min	10 ~ 20 min

-  提示
- 总时长：指 8 个反应理论时长，单次建库样本数增多，时间将延长。
  - 手工操作时长：指该流程累计手工操作的总时长。
  - ：停止点。

## 2 样本要求及处理

---

### 2.1 样本准备

样本指杂交前用 MGIEasy 系列文库制备试剂盒制备的双 barcode 文库 (PCR 纯化产物)。

---

### 2.2 样本定量与质控

样本的定量和片段分布检测可参考样本制备的对应说明书中的“PCR 产物质检”步骤。

# 3 标准流程

## 3.1 杂交前样本制备

-  **提示**
- 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，并参考对应套装的使用说明书完成杂交捕获流程；
  - 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 高通量测序平台所用的接头封闭序列替换为本试剂盒中的 UDB Block 3 和 UDB Block 4。

**3.1 ~ 3.5 章节是以 NimbleGen SeqCap EZ 捕获流程为例进行的操作说明：**

1. MGI 平台双 barcode 构建的文库 (PCR 纯化产物) 即为杂交前样本。
2. 对于单样本杂交捕获，为每个样本单独杂交反应制备 PCR 产物。对于多样本混合杂交捕获，请参考 UDB PCR Primer Mix 使用规则进行杂交捕获前的样本混合方案设计。

## 3.2 杂交捕获

### 3.2.1 准备

试剂：试剂用前混匀，使用后请尽快放回冰箱储存。

表 6 试剂准备

试剂名称	要求
MGI Exome V4 Probe 或 MGI Exome V5 Probe 或 RSS_SeqCap_EZ 或其他商业探针试剂盒	自备物料
UDB Block 3	室温解冻，涡旋混匀、离心，冰上暂存
UDB Block 4	

### 3.2.2 Block 替换说明

- 参照 SeqCap EZ Library SR User's Guide Chapter 5 Step.3, 将 MGI Easy 双Barcode外显子组捕获试剂盒中的 UDB Block 3 和 UDB Block 4 组份替换 step 4 中 SeqCap HE Universal Oligo 和 SeqCap HE Index 2/4/6/8 Oligo。UDB Block3 和 UDB Block4 使用体积和替换方案参考下表。

 **提示** 若 UDB Block 3 与 UDB 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。)

表 7 针对主流商业探针推荐 UDB Block3 和 UDB Block4 使用体积和替换方案

商业探针	UDB Block 3 体积	UDB 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 $\mu$ L	1 $\mu$ L	N/A
MGI Exome V5 Probe	1 $\mu$ L	1 $\mu$ L	N/A
Kits with SureSelect series probes (SureSelect Human All Exon V6 etc.)	1 $\mu$ L	1 $\mu$ L	SureSelect Indexing Block #3
SeqCap EZ Human Exome Probes v3.0	1 $\mu$ L	1 $\mu$ L	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 $\mu$ L	1 $\mu$ L	xGen Universal Blocking Oligo (1)
			xGen Universal Blocking Oligo (2)
			xGen Universal Blocking Oligo (3)

### 3.2.3 杂交捕获与洗脱

- 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。

 **提示** 洗脱后进行下一杂交后 PCR 时要求含磁珠样品体积要求为 44  $\mu$ L。

- 如探针产品说明书中要求的扩增样品体积小于 44  $\mu$ L, 使用 NF water 将样品体积补为 44  $\mu$ L。
- 如探针产品说明书中要求的扩增样品体积大于 44  $\mu$ L, 需要将洗脱液体积减少为 44  $\mu$ L。

## 3.3 杂交后 PCR

### 3.3.1 准备

试剂：试剂用前混匀，使用后请尽快放回冰箱储存。

表 8 试剂准备

试剂名称	要求
Post-PCR Enzyme Mix	轻弹底部混匀，离心，冰上暂存
Dual Barcode PCR Primer Mix	室温解冻，涡旋混匀、离心

### 3.3.2 杂交后 PCR

1. 根据所需反应数，在冰上配制杂交后 PCR 反应液，涡旋混匀，瞬时离心后置于冰上。

表 9 杂交后 PCR 反应液的配制

组分	单个反应体积
Post-PCR Enzyme Mix	50 $\mu$ L
Dual Barcode PCR Primer Mix	6 $\mu$ L
Total	56 $\mu$ L

 提示 Post-PCR Enzyme Mix 与 Dual Barcode PCR Primer Mix 来自“MGIEasy 双Barcode外显子组捕获辅助试剂盒”，若使用其他平台建库试剂盒，需要对应更换 Post-PCR Enzyme Mix 与 Dual Barcode PCR Primer Mix。

2. 吸取 56  $\mu$ L 杂交后 PCR 反应液至各样本管中（44  $\mu$ L 含磁珠样本），涡旋混匀 3 次，每次 3 s，瞬时离心使液体收集至管底。
3. 将 PCR 管置于 PCR 仪上，按下表的条件进行反应。

表 10 杂交后PCR反应条件（体系：100  $\mu$ L）

温度	时间	循环数
105 $^{\circ}$ C 热盖	on	-
95 $^{\circ}$ C	3 min	1
98 $^{\circ}$ C	20 s	X
60 $^{\circ}$ C	15 s	
72 $^{\circ}$ C	30 s	
72 $^{\circ}$ C	10 min	1
4 $^{\circ}$ C	Hold	-

 提示 表中“X”处的循环数可参考下表。如本例中“X”为13。若做多杂，total杂交投入量高于1000 ng，可比单杂降低1-2 cycles。

表 11 针对主流商业探针推荐杂交后PCR循环数

商业探针	PCR 循环数
MGI Exome V4 Probe	12 ~ 13
MGI Exome V5 Probe	12 ~ 13
SeqCap EZ Human Exome Probes v3.0	12 ~ 13
xGen Exome Research Panel	8 (12 pool)-12 (1 pool)
SureSelect series probes 等同类 SureSelect 系列探针	12 ~ 13

4. 反应结束后，将 PCR 管瞬时离心使反应液收集至管底。
5. 将 PCR 管置于磁力架上，静置 2-5 min 至液体澄清。小心吸取 100  $\mu$ L 上清液至新的 1.5 mL 离心管。

## 3.4 杂交后 PCR 产物纯化

 提示 添加试剂、转移上清过程中请勿触碰、吸取磁珠。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。

### 3.4.1 准备

试剂：自备 MGIEasy DNA 纯化磁珠试剂盒。

表 12 试剂准备

试剂名称	要求
80%乙醇	自备物料，新鲜配制
TE Buffer	室温暂存
DNA Clean Beads	提前 30 min 取出平衡至室温，每次使用前充分涡旋混匀

### 3.4.2 杂交后 PCR 产物纯化

1. 混匀 DNA Clean Beads，吸取 100  $\mu$ L DNA Clean Beads 至样本管中（3.3.2 节步骤 5），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管中。或涡旋混匀。
2. 室温孵育 5 min。
3. 将样本管瞬时离心，再置于磁力架上静置 2~5 min 至液体澄清，小心吸取上清并丢弃。

4. 保持样本管固定于磁力架上，加入 200  $\mu$ L 80% 乙醇漂洗磁珠及管壁，静置 30 s，小心吸取上清并丢弃。
5. 重复步骤 4 一次。尽量吸干管内液体，有少量残留在管壁时可将样本管瞬时离心，在磁力架上分离后，用小量程移液器将管底液体吸干。
6. 保持样本管固定于磁力架上，打开管盖，室温干燥，直至磁珠表面无反光、无开裂。

 提示 磁珠过度干燥（开裂）将导致产量降低。

7. 将样本管从磁力架上取下，加入 32  $\mu$ L 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。或涡旋混匀。
8. 室温孵育 5 min。
9. 将样本管瞬时离心，再置于磁力架上静置 2~5 min 至液体澄清，小心吸取 30  $\mu$ L 上清液至新的 1.5 mL 离心管。

 停止点 产物纯化后可置 -20 $^{\circ}$ C 冰箱储存。

### 3.5 杂交后 PCR 产物质检

- 使用双链荧光定量法，按照定量试剂盒的操作说明书对 PCR 纯化后产物进行定量。

表 13 PCR 纯化后产物不同质检方法及标准

质检方法	设备/试剂	标准
双链荧光定量法	Qubit dsDNA HS Assay Kit Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit 等	PCR 产物的产量： $\geq 1$ pmol

1 pmol 不同片段大小的双链 DNA 样本分子对应不同的质量，可根据公式计算所需的 DNA 量。或参考下表。例如：主带 300 bp 的打断产物，双 barcode 插入接头长度 132 bp，PCR 产物主片段理论大小 432 bp，其产量应达到 286 ng。

**公式 1** 双链 DNA 样本 pmol 与 ng 间的换算

$$1 \text{ pmol PCR 产物对应的质量 (ng)} = \text{PCR 产物主带大小 (bp)} \times 0.66$$

表 14 不同片段大小 PCR 产物 1 pmol 对应产量

插入片段主片段大小 (bp)	PCR 产物主带大小 (bp)	1 pmol 对应产量 (ng)
150	282	187
200	332	220
250	382	253
300	432	286
350	482	319
400	532	352
450	582	385
500	632	418

- 后续环化步骤可参照 MGIEasy 双 Barcode 环化试剂盒使用说明书制备 ssDNA 文库或 MGIEasy 系列文库制备试剂盒说明书“环化消化”章节制备ssDNA 文库。
- 如需将多个杂交后 PCR 纯化产物样本混合测序，建议根据建议根据 MGI 官网 《DNBSEQ 平台双 barcode 文库 Pooling 指南》进行样本混合方案设计，在定量后进行带有不同 UDB PCR Primer Mix 的样本混合，混合后总量为 1 pmol，总体积  $\leq 48 \mu\text{L}$ 。
- 若在其他平台进行测序，请参考对应平台的文库制备要求。