

编号: SOP-013-B02-057



使用说明书

版本: 5.0

MGIEasy 快速环化模块

货号: 1000005258 (16 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。

Ambion[®]、Axygen[®]、Invitrogen[®]、Qubit[®]、Thermo Fisher[®]，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 5 月	<ul style="list-style-type: none">变更制造商信息更新说明书风格
4.0	V1.0	2022 年 3 月	更新公司 LOGO
A2	V1.0	2021 年 1 月	更新公司联系信息
A1	V1.0	2020 年 7 月	变更公司名称
A0	V1.0	2018 年 11 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

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

2 样本要求及处理	4
2.1 样本要求	4
2.2 Input DNA 混合	4

3 标准流程	6
3.1 变性及单链环化	6
3.2 产物质检	7

1 产品信息

1.1 产品描述

MGIEasy 快速环化模块是针对华大智造 (MGI) 高通量测序平台量身打造的文库环化试剂。使用本模块可以简单、快速地将 PCR 产物制备成 MGI 高通量测序仪专用的单链环状 DNA 文库。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

本试剂盒适用于所有推荐使用 MGIEasy 快速环化模块的 MGI 高通量测序平台的文库制备试剂盒获得的 PCR 产物。

1.3 适用测序平台

依据所使用的 MGI 高通量测序平台的文库制备试剂盒所适用的高通量测序平台而定, 本试剂盒不限定测序平台。

1.4 组分

MGIEasy 快速环化模块组分信息见下表。

试剂盒中包含信息卡片, 客户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快速环化模块 (16 RXN) (货号: 1000005258)

组分信息	管盖颜色	规格及数量
Splint Buffer	 紫色	186 μ L/支 \times 1
DNA Rapid Ligase	 紫色	8 μ L/支 \times 1

1.5 储存与运输

MGI Easy 快速环化模块

- 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 2 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	/
-20 °C 冷藏柜	/
Qubit 3.0 荧光定量仪	Thermo Fisher, Cat. No. Q33216 或同等功能仪器

表 3 试剂耗材清单

名称	推荐品牌
1x TE buffer, pH 8.0	Ambion, Cat. No. AM9858
Qubit ssDNA Assay Kit	Invitrogen, Cat. No. Q10212
移液器吸头	/
1.5 mL 离心管	/
0.2 mL PCR 管或 96 孔板	Axygen, Cat. No. PCR-02-C 或 Axxygen, Cat. No. PCR-96M2-HS-C
Qubit Assay Tubes 或 0.5 mL 透明薄壁管	Invitrogen, Cat. No. Q32856 或 Axxygen, 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。

- 配制各步骤反应液时推荐使用移液器吹打至少十次混匀，也可涡旋混匀。
- 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 仪至反应温度附近。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	变性及单链环化 	45 min	15 min
3.2	环化产物质检	15 ~ 20 min	10 ~ 15 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 样本要求

- Input DNA指投入环化的 PCR 产物的量，本模块推荐 Input DNA 量为 1 pmol。
- 若文库构建试剂盒有特殊的环化投入量需求，则按照文库构建试剂盒的要求投入所需的 Input DNA 量。
- 不同片段大小 DNA 1 pmol 分子对应不同的质量，可根据下表或公式 1 选择所需的 Input DNA 量。

表 4 不同 PCR 产物片段大小 1 pmol 对应产量

插入片段主带大小 (bp)	PCR产物主带大小 (bp)	1pmol对应产量 (ng)
150	234	155
200	284	188
250	334	221
300	384	254
350	434	287
400	484	320
450	534	353
500	584	386

公式 1 双链 DNA 样本 pmol 与 ng 间的换算

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

2.2 Input DNA 混合

- Input DNA可以是单个文库，也可以是多个带有不同 Barcode 的文库的混合物。
- 对样品进行混合时需满足 Barcode 混合的要求，具体参考使用的 MGI 高通量测序平台的文库制备试剂盒中规则选择合适的 Barcode 进行混合。
- 混合的样品总量推荐为 1 pmol。若每个样品所需数据量相同，则等量混合，每个样品所需的质量按照公式 2 进行计算。

公式 2 混合样品中单个样品所需质量的计算

$$\text{单个样本所需的质量 (ng)} = \frac{1 \text{ pmol Input DNA 对应的质量 (ng)}}{\text{混合的样本个数}}$$

公式 3 样本体积计算

$$\text{样本体积 } (\mu\text{L}) = \frac{\text{样本质量 (ng)}}{\text{样本浓度 (ng}/\mu\text{L})}$$

- 单个样本或混合后样本用于环化时，体积应为 48 μL 。若体积不足 48 μL ，则用 TE Buffer 补足。

3 标准流程

3.1 变性及单链环化

本标准实验流程 Input DNA来源：使用 MGI 高通量测序平台的文库制备试剂盒获得的 PCR 产物，所需用量为 1 pmol，不同片段大小的 Input DNA 按照要求进行取用。

3.1.1 准备

试剂：试剂用前混匀，使用后请尽快放回冰箱储存。

表 5 试剂准备

试剂名称	要求
TE Buffer	自备物料，室温
Splint Buffer	室温解冻，混匀离心，冰上暂存
DNA Rapid Ligase	瞬时离心，冰上暂存

3.1.2 变性

1. 根据 Input DNA 的主片段分布，吸取 1 pmol PCR 纯化产物或 PCR 纯化后混合测序产物至新的 0.2 mL PCR 管中，用 TE Buffer 补足至总体积 48 μ L。
2. 将 PCR 管置于 PCR 仪上，按下表的条件进行反应。

表 6 变性反应条件（体系：48 μ L）

温度	时间
105 $^{\circ}$ C热盖	On
95 $^{\circ}$ C	3 min

3. 反应结束后，**立即**将 PCR 管置于冰上，静置 2 min，瞬时离心后置于冰上。

3.1.3 单链环化

1. 根据反应数，在冰上配制单链环化反应液，涡旋混匀，瞬时离心后置于冰上。现配现用。

表 7 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

2. 吸取 12.1 μL 单链环化反应液至各样本管中（3.1.2 步骤 3），涡旋混匀 3 次，每次 3 s，瞬时离心后置于冰上。
3. 将 PCR 管置于 PCR 仪上，按下表的条件进行反应。

表 8 单链环化反应条件（体系：60.1 μL ）

温度	时间
45 $^{\circ}\text{C}$ 热盖	On
37 $^{\circ}\text{C}$	30 min
4 $^{\circ}\text{C}$	Hold

4. 反应结束后，将 PCR 管瞬时离心并置于冰上。

II 停止点 快速环化后产物可置 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存。

3.2 产物质检

- 取 20 μL 环化产物，使用测序试剂套制备 DNB，具体操作参考相应 MGISEQ/DNBSEQ 高通量测序试剂套装使用说明书。
- 随后使用 Qubit ssDNA Assay Kit 单链 DNA 荧光定量试剂盒，按照定量试剂盒的操作说明对 DNB 进行定量。
- DNB 浓度 $\geq 8 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 即可进行下一步 DNB 加载。