

编号:H-020-000915-00

货号	产品型号
940-001887-00	G400 STO FCL PE75



时空可视化试剂套装 MGISEQ-2000RS

说明书

版本:4.0

创新智造
引领生命科技

生产地址：中国武汉市东湖新技术开发区高新二路388号武汉光谷
国际生物医药企业加速器3.1期24栋
中国武汉市东湖新技术开发区高新大道818号B13栋
电 话：4000-688-114
邮 箱：MGI-service@mgi-tech.com
网 址：www.mgi-tech.com

仅供科研使用

武汉华大智造科技有限公司

关于说明书

本产品说明书适用于 **MGISEQ-2000RS** 时空可视化试剂套装，说明书版本 **4.0**。

本产品说明书及其包含的信息为武汉华大智造科技有限公司（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产品说明书进行重印、复制、修改、传播或公布给他人。本产品说明书的读者为终端用户。产品说明书作为试剂套装的一部分，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产品说明书。

华大智造对本产品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，确保本产品说明书的准确性。但是，华大智造对遗漏不承担责任，并保留任何对本产品说明书和仪器进行改进以提高其可靠性、功能或设计的权利。

Qubit™ 是赛默飞世尔科技公司或其子公司的商标。文中涉及的其它名称及商标属于各自所有者资产。

©2024-2025 武汉华大智造科技有限公司版权所有。

版本记录

版本	发布日期	修订内容摘要
4.0	2025 年 06 月 16 日	适配 CITE V1.1-ADT 文库测序
3.0	2025 年 01 月 20 日	适配 FF V1.3 文库测序
2.0	2024 年 06 月 24 日	更新产品名称
1.0	2024 年 04 月 22 日	首次发布

产品信息

试剂套装货号	试剂套装名称	型号	版本
940-001887-00	MGISEQ-2000RS 时空可视化试剂套装	G400 STO FCL PE75	1.0

目录

第 1 章 介绍	1
1.1 预期用途	1
1.2 测序原理	1
1.3 样本需求	1
1.4 数据分析	1
1.5 测序读长	1
1.6 测序时长	2
1.7 注意事项	2
第 2 章 可视化试剂套装组分清单及自备设备和耗材	3
2.1 可视化试剂套装组分清单	3
2.2 自备设备、试剂与耗材	4
第 3 章 测序工作流程	5
第 4 章 准备 DNB	6
4.1 文库插入片段大小要求	6
4.2 文库浓度	6
4.3 制备 DNB	7
4.3.1 准备 DNB 制备试剂	7
4.3.2 计算 DNB 反应体系数量	7
4.3.3 计算 dsDNA 文库所需量	8
4.3.4 制备 DNB	8
4.4 DNB 浓度测定	10
第 5 章 载片准备	11
第 6 章 加载 DNB	12
6.1 测序仪加载 DNB	12
6.1.1 准备试剂	12

6.1.2 加载 DNB	13
6.2 MGIDL-200H 加载 DNB	13
6.2.1 准备试剂	13
6.2.2 加载 DNB	14
第 7 章 准备测序试剂槽	15
第 8 章 开始测序	20
8.1 进入程序	20
8.2 放置样品	21
8.3 测序参数配置	22
8.4 放置试剂槽	22
8.5 放置载片	24
8.6 复核信息	26
8.7 开始测序	28
8.8 数据获取	28
第 9 章 清洗维护	29
9.1 清洗类型介绍	29
9.2 准备清洗试剂	30
9.3 准备清洗试剂管、清洗试剂槽和清洗载片	30
9.3.1 准备清洗试剂管及所需试剂	30
9.3.2 准备清洗试剂槽	31
9.3.3 准备清洗载片	32
9.4 清洗流程	33
9.4.1 常规清洗（约 54 分钟）	33
9.4.2 全套维护清洗（约 94 分钟）	33
9.4.3 超深度清洗（约 11 小时）	35
9.4.4 （可选）DNB 管清洗（约 15 分钟）	35
第 10 章 异常处理	36
10.1 DNB 浓度低	36

10.2	PE 测序时忘记加 15 号孔位的试剂	36
10.3	试剂盒暂存	38
10.4	负压异常	38
10.5	出现杂质	39
10.6	泵液失败	39
附录 1 使用 Qubit 进行 DNB 定量操作指导		40
附录 2 制造商信息		41

--- 此页有意留白 ---

第 1 章 介绍

本产品说明书是使用 MGISEQ-2000RS 时空可视化试剂套装进行测序操作的作业指导书，内容包括 DNA 纳米球（DNB）的制备及载片的准备，可视化试剂套装组分、存储环境及使用方法，测序上机操作以及测序完成后的仪器维护等。

1.1 预期用途

本产品是用于测定时空文库序列的通用试剂盒，与基因测序仪(MGISEQ-2000RS)配合使用，完成高通量测序并获取样本序列信息。本试剂套装仅供科研使用，不能用于临床诊断。

1.2 测序原理

本试剂套装使用联合探针锚定聚合技术（cPAS），通过将 DNA 分子锚和荧光探针在 DNA 纳米球（DNB）上进行聚合，并利用高分辨率成像系统对光信号进行采集，光信号经过数字化处理后获得高质量高准确度的样本序列信息。

1.3 样本需求

本试剂套装适用于 Stereo-seq 16 Barcode 建库试剂盒（货号：101KL160）构建的时空转录组 FF V1.3 文库、时空转录组 FFPE 文库和抗体衍生标签（ADT）文库（CITE V1.1-ADT）。

1.4 数据分析

当测序正在进行时，控制软件自动调用 basecall 软件分析，并输出测序数据到指定位置用于二次分析。

1.5 测序读长

在测序过程中，测序循环数是按照所选择的测序读长执行的。例如，PE25+59 测序是按照一链 25 循环，二链 59 循环，共计 84 循环执行，最后得到 84 循环的序列数据。标签序列的 10 循环数需要额外进行计算。

表 1 测序循环数示例

文库类型	测序读长	一链读长	二链读长	标签读长	总读长	最大支持循环数
FFPE	PE25+59	25	59	10	26+60+10	172

文库类型	测序读长	一链读长	二链读长	标签读长	总读长	最大支持循环数
FF V1.3	PE50+100	50 (26-40 循环暗反应)	100	10	51+101+10	172
CITE V1.1-ADT	PE50+36	50 (26-40 循环暗反应)	36 (1-21 循环暗反应)	10	51+37+10	98

1.6 测序时长

表 2 FCL 理论测序时长 (小时)

时长 (小时)	FFPE (PE25+59)	FF V1.3 (PE50+100)	CITE V1.1-ADT (PE50+36)
单载片	19.5	30.0	19.5
双载片	20.5	31.0	20.5
数据处理 (单边)	0.3	0.4	0.3
数据处理 (双边)	0.6	0.8	0.6

-  提示
- 测序时长 (单载片 / 双载片) 包括从 **Post loading prime** 开始到测序完成的时间。数据处理的时间包括测序完成后测序仪自动进行 **Barcode** 拆分 (如有选择拆分 **Barcode**) 和 **FASTQ** 文件输出的时间。
 - 上表数值仅为理论测序时长, 不同测序仪的实际运行时间可能会有所不同。

1.7 注意事项

- 本产品仅用于科学研究, 使用前请仔细阅读产品说明书。
- 试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进行污染物处理。
- 本产品为一次性使用产品, 不可重复使用。
- 组分与试剂盒的批次是独立的, 请勿取出组分, 将其保存在包装盒中直至使用完毕。不同批次之间试剂组分严禁混用。
- 严禁使用超过有效期的产品。

第 2 章 可视化试剂套装组分清单及自备设备和耗材

2.1 可视化试剂套装组分清单

- 提示
- 不同批次之间试剂组分严禁混用。
 - 组分和包装盒的批次是分开的。
 - 请保持组分存放在包装盒中，直至使用完毕。

表 3 MGISEQ-2000RS 时空可视化试剂套装（G400 STO FCL PE75） 货号：940-001887-00

组分信息	管盖颜色	规格及数量	储存温度	运输温度	有效期
测序载片	/	1 张	-25 °C ~ -15 °C	-80 °C ~ -15 °C	10 个月
TE 缓冲液		300 μL×1 支			
时空组学DNB制备缓冲液		80 μL×1 支			
DNB 聚合酶混合液 I(OS-V4.0)		160 μL×1 支			
DNB聚合酶混合液II(OS-V4.0)		8 μL×1 支			
DNB 终止缓冲液		100 μL×1 支			
DNB 加载缓冲液 I		200 μL×1 支			
DNB 加载缓冲液 II		180 μL×1 支			
0.5 mL 冻存管		1 支			
dNTPs 混合液		0.70 mL×1 支			
dNTPs 混合液 II		0.96 mL×1 支			
DNA 聚合酶混合液 II		2.00 mL×1 支			
失活 MDA 试剂		3.50 mL×1 支			
MDA 聚合酶混合液 II		0.50 mL×1 支			
测序试剂槽	/	1 个			
透明封口膜	/	2 张			

2.2 自备设备、试剂与耗材

- 提示
- DNB 制备和加载禁止使用带滤芯的吸头，必须使用推荐的品牌货号。
 - 其他耗材建议使用推荐品牌货号。

表 4 自备设备和耗材

种类	物料名称	推荐品牌	供应商货号
设备	Qubit 4.0 荧光定量仪	Thermo Fisher	Q33226
	迷你离心机	无	无
	漩涡振荡器	无	无
	PCR 仪	Bio-Rad	无
	移液器	Eppendorf	无
	2 °C ~ 8 °C冰箱	无	无
	-25 °C ~ -15 °C冰箱	无	无
试剂	Qubit ssDNA Assay Kit	Thermo Fisher	Q10212
	Qubit dsDNA HS Assay Kit	Thermo Fisher	Q32851/Q32854
	Qubit Assay Tubes	Thermo Fisher	Q32856
	100% Tween-20	BBI	A600560-0500
	5 M NaCl	SIGMA	S5150-4L
	2 M NaOH	阿拉丁	S128511-1L
耗材	Power dust remover (空气罐)	MATIN	M-6318
	盒装灭菌吸头	AXYGEN	无
	200 µL 阔口吸头	AXYGEN	T-205-WB-C
	0.2 mL PCR 八连管	AXYGEN	无
	1.5 mL 离心管	AXYGEN	MCT-150-C
	2.0 mL 冻存管	SARSTEDT	72.609.003
	冰盒	AXYGEN	无
	电动移液器	Labnet	FASTPETTEV-2
	一次性移液管	CORNING	无
	5 mL 灭菌管	SARSTEDT	60.558.001
	便携式加样器	MGI	900-000217-00
	测序仪清洗槽	MGI	940-000623-00

第 3 章 测序工作流程

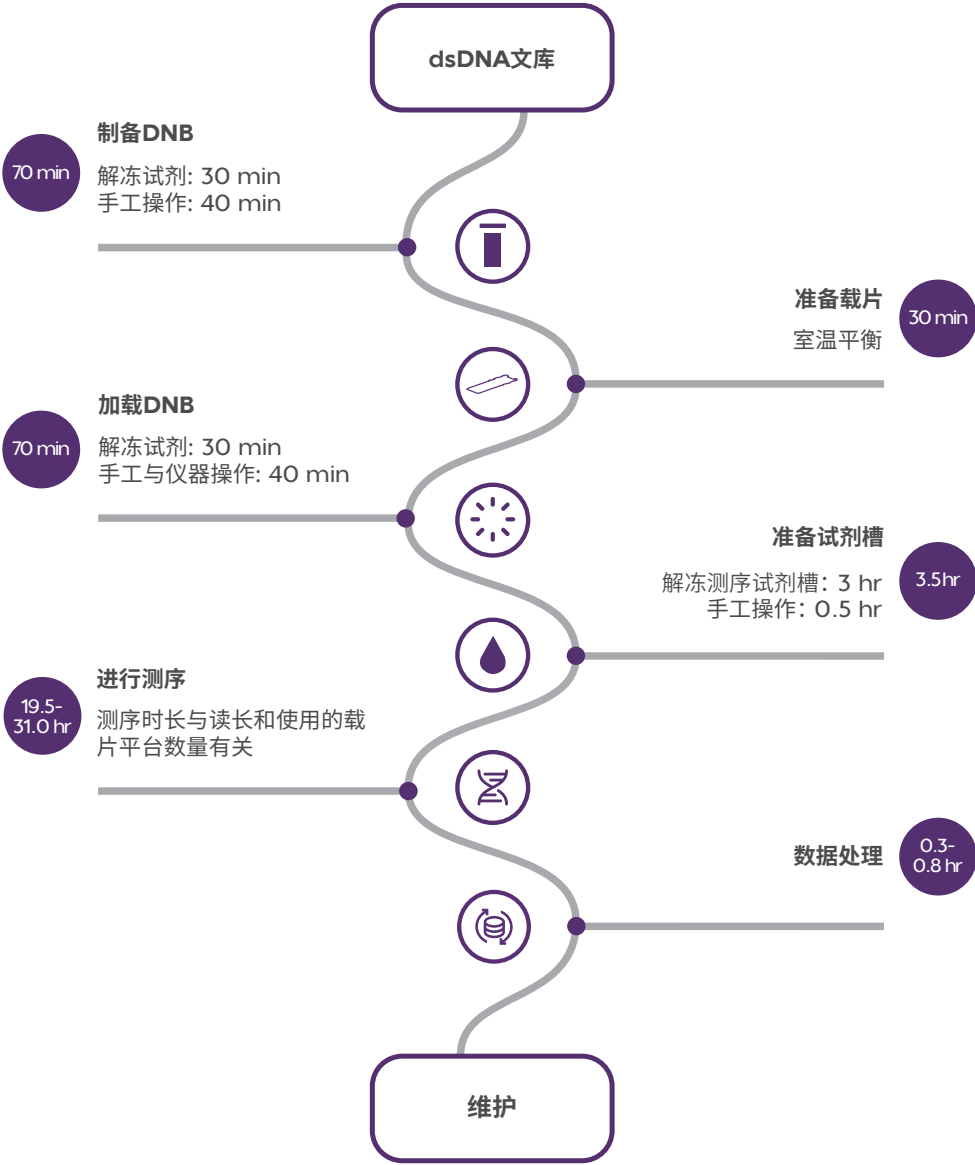


图 1 操作流程

 提示 以上提到的手动操作时间仅供参考，实际的时间需要根据操作的熟练程度决定。

第 4 章 准备 DNB

4.1 文库插入片段大小要求

本试剂套装适用于时空转录组 FF V1.3 文库、时空转录组 FFPE 文库和抗体衍生标签 CITE V1.1-ADT 文库测序，文库为双链 DNA。FFPE 文库插入片段范围在 150 ~ 1000 bp，同时主带集中在 ± 100 bp 内。FF V1.3 文库插入片段范围在 200 ~ 600 bp，同时主带集中在 ± 100 bp 内。CITE V1.1-ADT 文库插入片段范围在 200 ~ 260 bp。

-  提示
- 如建库试剂盒说明书有特殊要求，则以建库试剂盒说明书的片段要求为准。
 - 数据量仅为参考，不同文库和不同应用产出数据量会有变化。

表 5 推荐插入片段长度和单张载片数据产出

产品型号	文库类型	理想文库插入片段大小 (bp)	数据量 (M/lane)
G400 STO FCL PE75	FFPE	150 ~ 1000	~ 320
	FF V1.3	200 ~ 600	~ 320
	CITE V1.1-ADT	200 ~ 260	~ 320

4.2 文库浓度

表 6 文库浓度要求

文库类型	初始文库 dsDNA 浓度要求
FFPE dsDNA	≥ 3 ng / μ L
FF V1.3 dsDNA	≥ 20 fmol / μ L
CITE V1.1-ADT	≥ 10 fmol / μ L

-  提示
- 若文库浓度未知，建议使用 Qubit dsDNA Assay Kit 和 Qubit 4.0 荧光定量仪定量出文库实际浓度 C (ng/ μ L)。
 - fmol 与 ng 换算公式：

$$C(\text{fmol}/\mu\text{L}) = \frac{3030 \times C(\text{ng}/\mu\text{L})}{N \times 2}$$

N 表示核苷酸平均数目（文库总片段长度，包括接头序列长度），C 表示文库浓度。

- 如建库试剂盒说明书有特殊要求，则以建库试剂盒说明书的文库要求为准。

4.3 制备 DNB

4.3.1 准备 DNB 制备试剂

操作步骤如下：

- 1. 取出文库置于冰盒上备用。
- 2. 从时空可视化试剂套装中取出以下试剂并置于室温解冻，约 30 分钟。

表 7 试剂准备 1

组分	管盖颜色
TE 缓冲液	
时空组学 DNB 制备缓冲液	
DNB 终止缓冲液	

- 3. 从时空可视化试剂套装中取出 **DNB 聚合酶混合液 I (OS-V4.0)** 置于冰盒上解冻，约 30 分钟。

表 8 试剂准备 2

组分	管盖颜色
DNB 聚合酶混合液 I (OS-V4.0)	

- 4. 待融化后，使用漩涡振荡器震荡混匀 5 秒后，短暂离心置于冰盒上备用。

4.3.2 计算 DNB 反应体系数量

每张 MGISEQ-2000RS 测序载片含有 4 条 lane，可根据情况从以下方案中选择合适的加载方式，不同的加载方式所需的 DNB 反应体系数量不同：

- 测序仪
 - 一张载片上的每条 lane 必须是同一份 DNB，每条 lane 需要 50 μ L 的 DNB。
- MGIDL-200H 便携式加样器
 - 一张载片上的每条 lane 可以加载不同份的 DNB，每条 lane 需要 25 μ L 的 DNB。

表 9 每张 MGISEQ-2000RS 测序载片所需制备 DNB 反应体系数量

载片类型	加载仪器	DNB体积 (μL/Lane)	DNB制备体系 (μL)	反应体系数量/载片
FCL	测序仪	50	100	2
	MGIDL-200H	25	100	1~4

4.3.3 计算 dsDNA 文库所需量

根据第 6 页“文库浓度”，计算每个 DNB 制备体系所需投入的 dsDNA 文库体积：

表 10 dsDNA 文库所需量

文库类型	文库体积
FFPE dsDNA	V=60 ng/C1
FF V1.3 dsDNA	V=400 fmol/C2
CITE V1.1-ADT dsDNA	V=200 fmol/C3



- 提示
- 如建库试剂盒说明书有特殊要求，则以建库试剂盒说明书的文库要求为准。
 - C1 为第 6 页“文库浓度”中得到的 FFPE 文库浓度 (ng/μL)，C2 为第 6 页“文库浓度”中得到的 FF V1.3 文库浓度 (fmol/μL)。C3 为第 6 页“文库浓度”中得到的 CITE V1.1-ADT 文库浓度 (fmol/μL)。

4.3.4 制备 DNB

操作步骤如下：

- 取用 0.2 mL 八连管或 PCR 管，在冰上按如下体系配制反应混合液：



提示 V 表示第 8 页“计算 dsDNA 文库所需量”中每个 DNB 制备体系所需投入的 dsDNA 文库体积。

表 11 DNB 制备反应体系 1

组分	管盖颜色	体积 (μL)
TE 缓冲液		20-V
时空组学 DNB 制备缓冲液		20
文库 dsDNA	/	V
总体积		40

2. 将反应混合液用漩涡振荡器振荡混匀，迷你离心机离心 5 秒，置于 PCR 仪中反应，反应条件如下：

表 12 DNB 制备反应条件 1

温度	时间
105 °C热盖	On
95 °C	3 分钟
程序反应完成后立即将样本至于冰上 2 分钟	

3. 取出 DNB 聚合酶混合液 II（OS-V4.0）置于冰上，短暂离心 5 秒，置于冰上备用。

 提示 请勿将 DNB 聚合酶混合液 II（OS-V4.0）置于室温，请勿长时间触碰管壁。

4. 样本管冷却后使用迷你离心机离心 5 秒后，在冰上加入如下组分：

表 13 DNB 制备反应体系 2

组分	管盖颜色	体积（μL）
DNB 聚合酶混合液 I（OS-V4.0）		40
DNB 聚合酶混合液 II（OS-V4.0）		2
总体积		42

5. 反应混合液用漩涡振荡器震荡混匀，迷你离心机离心 5 秒，即刻置于 PCR 仪中，反应条件如下：

 提示

- FF V1.3 文库、FFPE 文库及 CITE V1.1-ADT 文库的反应程序不同，根据实际需求选择相应的程序。
- 部分品牌 PCR 仪的热盖升降温速度慢，在热盖升降温过程中，加热模块处于室温状态，且程序未运行。对于这种类型的 PCR 仪，需提前进行热盖预热，确保进行 DNB 反应时热盖处于工作温度。
- 热盖温度建议设置为 35 °C，或尽可能设置成接近 35 °C 的最低温度。

- FF V1.3 文库和 CITE V1.1-ADT 文库 DNB 制备反应条件：

表 14 DNB 制备反应条件 2

温度	时间
35 °C热盖	On
30 °C	25 分钟
4 °C	Hold

■ FFPE 文库 DNB 制备反应条件:

表 15 DNB 制备反应条件 2

温度	时间
35 °C热盖	On
30 °C	30 分钟
4 °C	Hold

6. 当 PCR 仪温度达到 4 °C后立即加入 20 μL DNB 终止缓冲液，用阔口吸头（不带滤芯）缓慢地吹打混匀 5-8 次。

- 提示
- DNB 必须使用阔口吸头（不带滤芯）混匀，切勿离心、震荡及剧烈吹打。
 - 制备完成的 DNB 可置于 4 °C保存备用，并于 48 小时内使用。

4.4 DNB 浓度测定

DNB 制备完成后，取用 2 μL DNB，使用 Qubit ssDNA Assay Kit 和 Qubit 4.0 荧光定量仪进行浓度检测，浓度 ≥ 8ng/μL 即为合格。

- 提示
- 若 DNB 浓度不合格，需重新制备。
 - 若样本数量超过 8 个，建议分批定量，避免荧光猝灭导致 DNB 浓度定量不准确。定量具体操作见第 40 页“使用 Qubit 进行 DNB 定量操作指导”。

第 5 章 载片准备

操作步骤如下：

1. 从 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ~ $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中取出时空可视化试剂套装，将载片从试剂套装中取出。

 提示 此时不要拆开真空包装袋。

2. 将载片在室温环境下放置 30 分钟到 24 小时。

3. 使用前再打开载片真空包装袋，开始 DNB 加载。

 提示

- 如载片从冰箱取出并已于室温放置后不能在 24 小时之内使用，且真空包装袋完好无损时，可以继续放回 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ~ $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存，但 $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ~ $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 与室温的环境切换不得超过 3 次。
- 真空包装袋打开后不能立即使用，可于室温保存，并在 24 小时之内使用，如超过 24 小时，不建议使用。

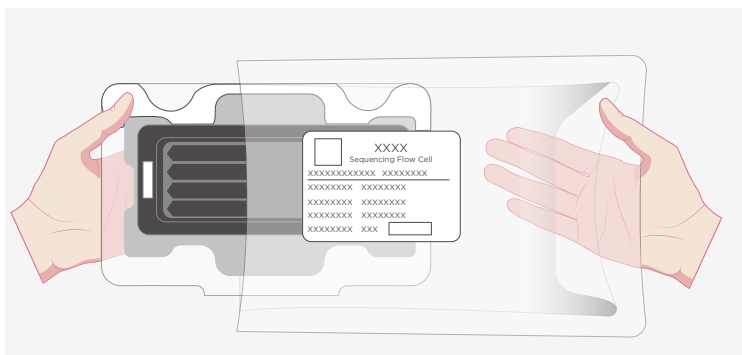


图 2 撕开载片真空包装袋

4. 取出载片，检查载片是否完整。

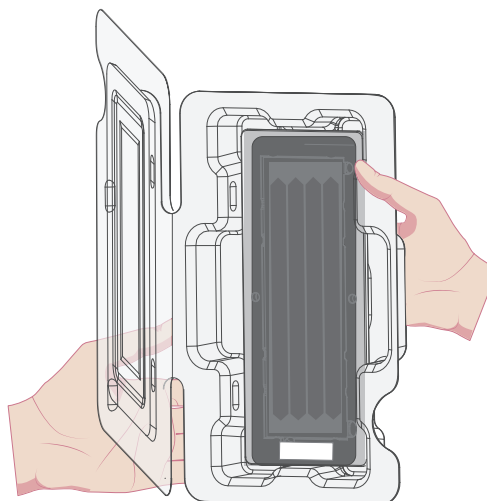


图 3 检查载片完整性

第 6 章 加载 DNB

6.1 测序仪加载 DNB

6.1.1 准备试剂

操作步骤如下：

1. 取出 DNB 加载缓冲液 II，置于冰盒上约 30 分钟，待融化后，使用漩涡振荡器震荡混匀 5 秒，短暂离心后置于冰盒上备用。

 提示 如发现 DNB 加载缓冲液 II 中有结晶，使用漩涡振荡器持续剧烈振荡约 1~2 分钟至沉淀重新溶解，短暂离心后方可使用。
2. 取出 0.5 mL 冻存管，按下表所示配制 DNB 加载体系 1:

表 16 DNB 加载体系 1

组分	管盖颜色	加入量 (μL)
DNB 加载缓冲液 II		64
DNB 聚合酶混合液 II (OS-V4.0)		2
DNB	/	200
总体积		266

-  提示 该 DNB 加载体系要现配现用。
3. DNB 加载体系用阔口吸头缓慢混匀 5~8 次，放置 4 °C 备用。

 提示
 - 切勿离心、震荡及剧烈吹打。
 - 每张测序载片 (FCL) 需要 266 μL DNB 加载体系 1。

6.1.2 加载 DNB

操作步骤如下：

- 1. 打开试剂仓门，一只手轻轻抬起试剂针，另一只手取出清洗试剂管，然后放入需要加载的 DNB 加载体系，并缓慢放下试剂针。

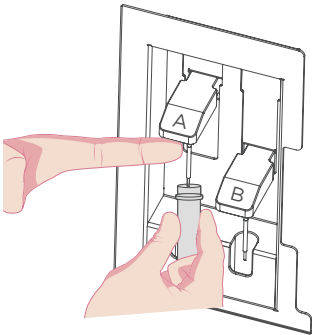


图 4 放置加载样品

- 2. 关闭试剂仓门。
- 3. 在测序方案后勾选【DNB 加载】。
- 4. 下一步操作参考第 22 页“放置试剂槽”。

6.2 MGIDL-200H 加载 DNB

提示 详细 DNB 加载操作请参考 *MGIDL-200H* 便携式加样器快速操作指南，加载前需按照该说明书进行清洁操作。

6.2.1 准备试剂

操作步骤如下：

- 1. 取出新的八连管，按下表所示配制 DNB 加载体系 2：

表 17 DNB 加载体系 2

组分	管盖颜色	加入量 (μL)
DNB 加载缓冲液 II		8
DNB 聚合酶混合液 II (OS-V4.0)		0.25
DNB	/	25
总体积		33.25

2. DNB 加载体系用阔口吸头缓慢混匀 5~8 次。

-  提示
- 切勿离心、震荡及剧烈吹打。
 - 每条 lane 需要 30 μL DNB 加载体系 2。

6.2.2 加载 DNB

1. 安装密封垫和载片。

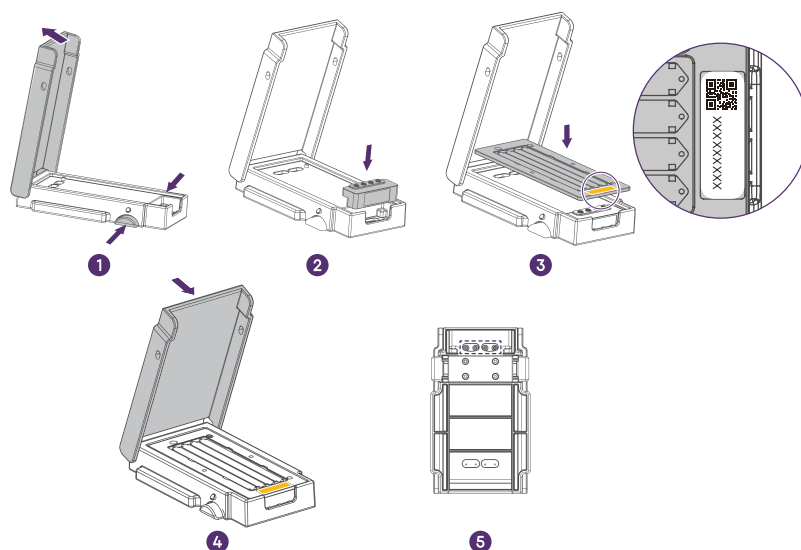


图 5 安装密封垫和载片

- 1) 按住两侧卡扣，打开盖板。
- 2) 将密封垫放置在密封垫槽中，确保密封垫平整。
- 3) 将测序载片上的定位孔对准定位柱，并放置在加样器中。
- 4) 盖上盖板，确认盖板已盖紧。
- 5) 使加样器背面朝上，检查流路入口与密封垫中的孔是否对齐，确保无异物堵塞。

2. 使用 DL-200H 加载样本。

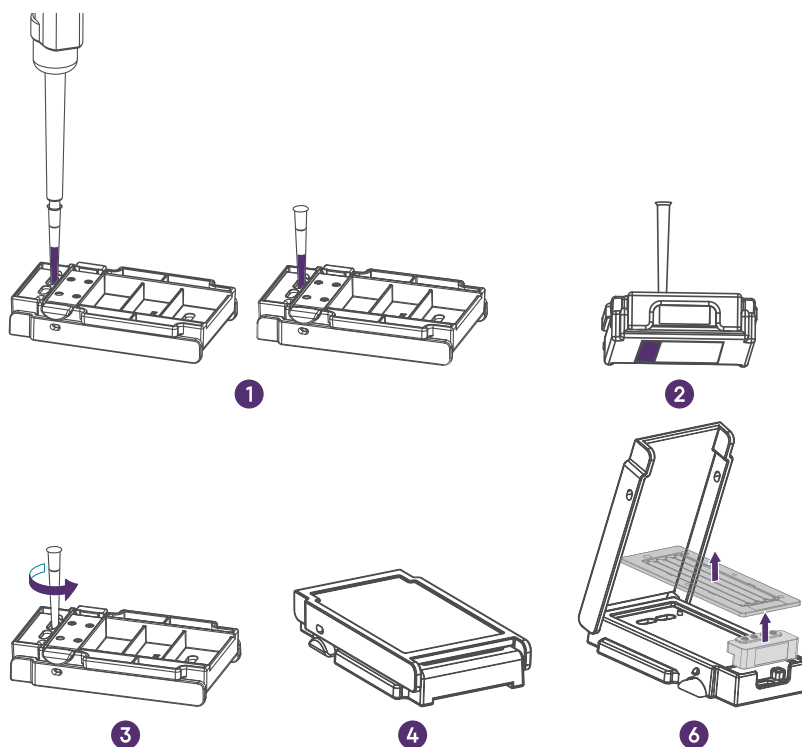


图 6 DL-200H加载样本

- 1) 将加样器背面朝上放置在实验桌上。用移液枪吸取 30 μL DNB 样本，将移液枪吸头插入流路入口中。按下移液枪上相应按钮卸载吸头，样本自动流入载片中。
 - 2) 将加样器水平举高（与实验桌平行），查看载片中是否充满样本。
 - 3) 确保样本加载完成后，逆时针旋转拔出吸头。
 - 4) 重复步骤 1~4 将样本加载到载片上其他流路。
 - 5) 将加样器正面朝上，水平放置 30 分钟待用。
 - 6) 打开盖板，取出载片待用。取出密封垫，待清洗。
3. 样本加载完成后立即转移到测序仪上使用。
4. 下一步操作参考第 20 页“开始测序”。

第 7 章 准备测序试剂槽

DNA 聚合酶混合液和 dNTPs 混合液装在不同的管中，并与测序试剂槽一起包装。开始测序前需在测序试剂槽的 1 号和 2 号孔位加入适量的 DNA 聚合酶混合液和 dNTPs 混合液。此外，MDA 酶是 PE 测序二链生成的关键试剂，开始测序前需加入到 15 号孔位中。如试剂槽已经准备完毕但不能立刻上机测序，参考第 38 页“试剂盒暂存”。

操作步骤如下：

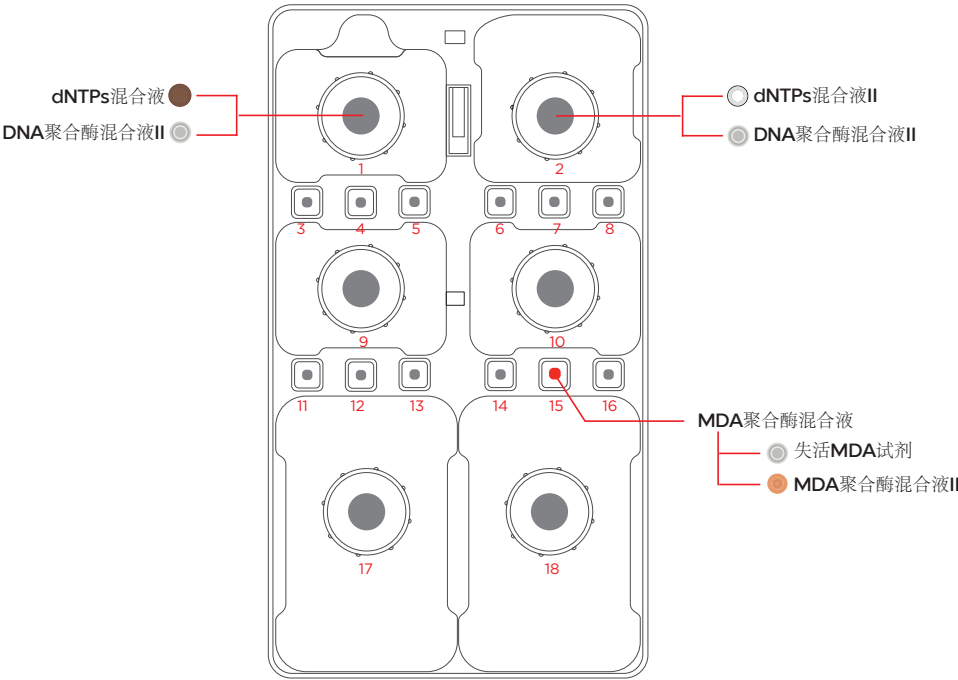


图 7 试剂槽加样示意图

1. 取出测序试剂槽，于常温水浴解冻或提前一天将其置于 2 °C ~ 8 °C 冰箱解冻，解冻后置于 2 °C ~ 8 °C 冰箱备用，解冻时间如下表：

表 18 试剂槽解冻时间

产品型号	解冻方法		
	常温水浴解冻时间 (小时)	2~8℃冰箱过夜后水 浴解冻时间 (小时)	2~8℃冰箱解冻时间 (小时)
G400 STO FCL PE75	3	1.5	36

2. 使用前将测序试剂槽翻转 3 次，然后上下剧烈摇晃 20 次，前后左右剧烈摇晃 20 次，确保试剂充分混匀。
3. 使用无尘纸擦净盖板及孔位处的冷凝水。

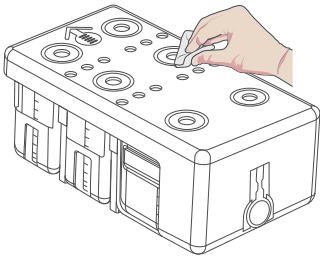


图 8 试剂槽孔位示意图

- 4. 提前 1 小时取出 dNTPs 混合液和 dNTPs 混合液 II，室温融化后置于冰上或 4 °C 备用。
- 5. 使用前取出 DNA 聚合酶混合液 II、失活 MDA 试剂及 MDA 聚合酶混合液 II，置于冰上或 4 °C 备用。
- 6. 使用洁净的 1 mL 枪头，在 1 号和 2 号孔中间位置轻轻戳出一个直径约 2 cm 的加样孔。

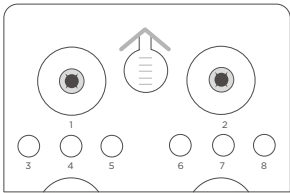


图 9 试剂槽加样孔开孔

- 7. 取对应量程的移液器，按照下表体积，先将 dNTPs 混合液加入新的 5 mL 灭菌管内，后将 DNA 聚合酶混合液 II 加入管内的 dNTPs 混合液中，轻轻颠倒混匀 4~6 次，再将混合液全部加到 1 号孔中。
-  提示
 - dNTPs 混合液加样前需使用漩涡振荡器震荡混匀 5 秒，短暂离心后再使用。
 - DNA 聚合酶混合液 II 加样前需颠倒混匀 4~6 次。
 - 转移混合液时，小心操作，防止混合液从试剂管中溢出。

表 19 测序试剂槽 1 号孔试剂加样表

产品型号	加样体积（mL）	
	dNTPs 混合液 	DNA 聚合酶混合液 II 
G400 STO FCL PE75	0.700	1.400

- 8. 取对应量程的移液器，按照下表体积，将 dNTPs 混合液 II 加入新的 5 mL 灭菌管内，后将 DNA 聚合酶混合液 II 加入管内的 dNTPs 混合液 II 中，轻轻颠倒混匀 4~6 次，再将混合液全部加到 2 号孔中。
-  提示
 - dNTPs 混合液 II 加样前需使用漩涡振荡器震荡混匀 5 秒，短暂离心后再使用。
 - DNA 聚合酶混合液 II 加样前需颠倒混匀 4~6 次。
 - 转移混合液时，小心操作，防止混合液从试剂管中溢出。

表 20 测序试剂槽 2 号孔试剂加样表

产品型号	加样体积 (mL)	
	dNTPs 混合液 II 	DNA 聚合酶混合液 II 
G400 STO FCL PE75	0.960	0.600

9. 使用配套的透明封口膜将 1 号和 2 号加样孔封住。

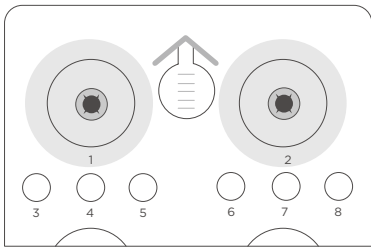


图 10 试剂槽加样孔封膜

10. 贴封口膜时使用手指旋转按压圆盖子处的封口膜，确保贴牢固无气泡，试剂槽内的试剂不会从加样孔溢出。

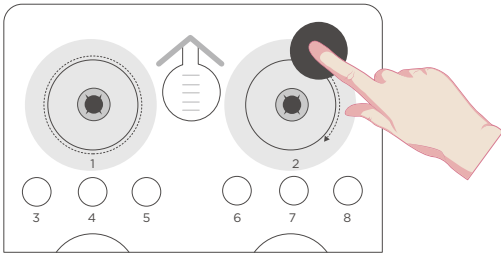


图 11 贴紧封口膜

11. 试剂槽水平放置在桌面上，双手握住两侧，顺时针摇晃 10 ~ 20 次，再逆时针摇晃 10 ~ 20 次，确保试剂的充分混匀。

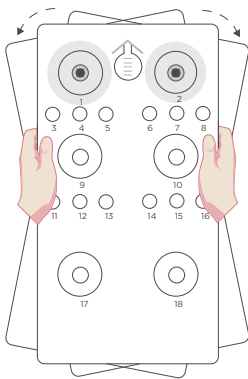


图 12 试剂槽加样后混匀

12. 撕掉 1 号和 2 号孔位的封口膜弃用。

-  提示
- 撕下的封口膜严禁重复使用。
 - 注意 1 号和 2 号孔的试剂不要交叉污染。

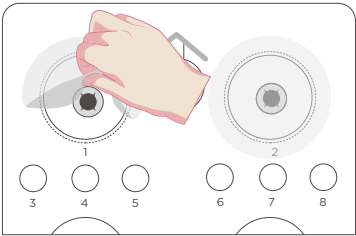


图 13 试剂槽混匀撕掉封口膜

13. 轻轻敲打测序试剂槽，以减少试剂中的气泡。

14. 使用枪头戳破 15 号孔的封口膜。

15. 用 1 mL 移液器移取 500 μ L MDA 聚合酶混合液 II 加入到失活 MDA 试剂的试剂管中，颠倒混匀 4 ~ 6 次，使其充分混匀。

-  提示
- 使用 MDA 聚合酶混合液 II 时，请勿触摸试剂所在管壁，以免影响酶活。

16. 将混匀液加入 15 号孔中，加入时确保管底部无气泡。

-  提示
- 转移混匀液时，小心操作，防止混匀液从试剂管中溢出。
 - 下一步操作可直接进入第 20 页“开始测序”。

第 8 章 开始测序

8.1 进入程序

输入用户名和密码，点击【登录】进入主界面，主界面如第 20 页 “图 15” 所示。

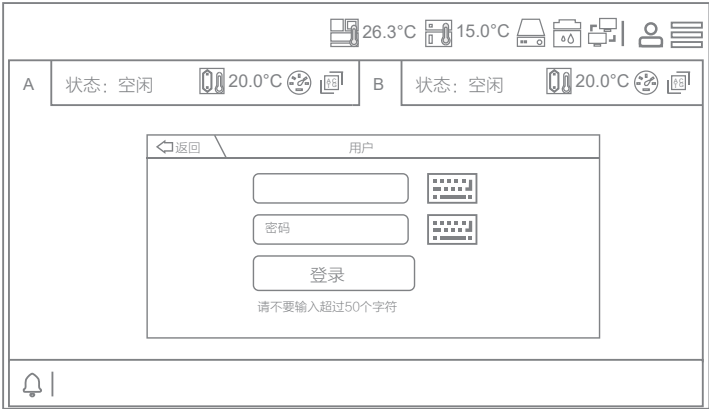


图 14 登录界面

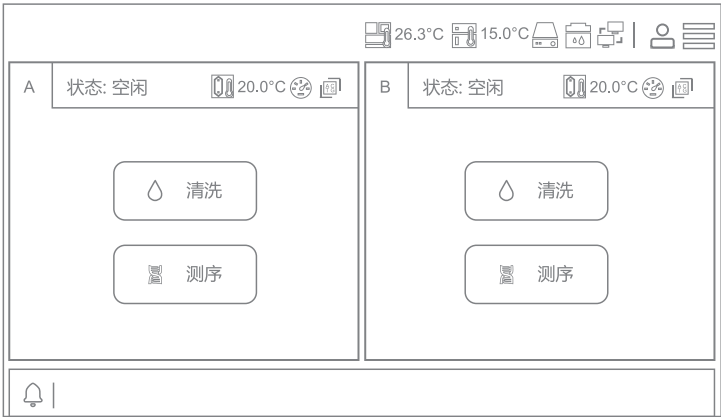


图 15 主界面

8.2 放置样品

操作步骤如下：

- 1. 点击主界面上的【测序】选项，进入如下界面：

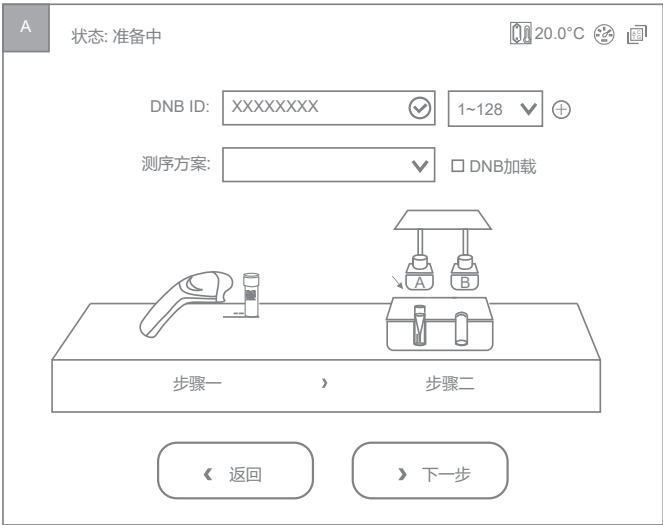


图 16 样品输入界面

- 2. 点击【DNB ID】后面的 ⊕ 显示 4 条 lane 的信息。

 提示 FCL 需要选择 4 条 lane。



图 17 样品及信息选择界面

- 3. 将光标移至【DNB ID】后面的待写区，输入文库名称或编号。
- 4. 拉动 ⊕ 前面的下拉菜单，选择不同 lane 的 Barcode 序列。

8.3 测序参数配置

操作步骤如下：

1. 在【测序方案】下拉菜单中选择时空组学测序方案，时空转录组 FF V1.3 文库测序时选择 STO_T_50+100+10 或 STO_T_50+100_noBC，时空转录组 FFPE 文库测序时选择 STO_N_25+59+10 或 STO_N_25+59_noBC。CITE V1.1-ADT 文库测序时选择 STO_P_50+36+10 或 STO_P_50+36_noBC。

-  提示
- 时空转录组 FF V1.3 文库测序：如需进行 barcode 测序选择 STO_T_50+100+10 测序方案，如不进行 barcode 测序选择 STO_T_50+100_noBC 测序方案。
 - 时空转录组 FFPE 文库测序：如需进行 barcode 测序选择 STO_N_25+59+10 测序方案，如不进行 barcode 测序选择 STO_N_25+59_noBC 测序方案。
 - CITE V1.1-ADT 文库测序：如需进行 barcode 测序选择 STO_P_50+36+10 测序方案，如不进行 barcode 测序选择 STO_P_50+36_noBC 测序方案。

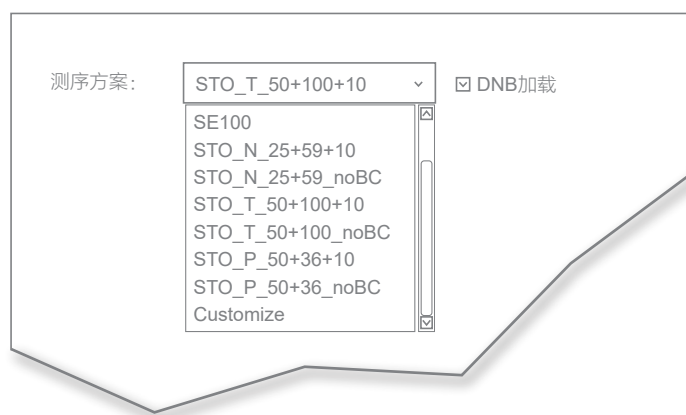


图 18 测序方案的选择

2. 选择测序方案后，如果在测序仪上加载 DNB，则勾选【DNB 加载】，否则不勾选，然后下一步操作可直接进入第 22 页“放置试剂槽”。

8.4 放置试剂槽

操作步骤如下：

1. 将光标放置在【试剂槽 ID】待写区，使用条码扫描枪扫描试剂槽标签右下角的条形码录入试剂槽信息，也可进行手动输入。

 提示 手动输入试剂槽 ID 时需输入试剂槽上的 SN 号，SN 号的前 3 位为 W05。

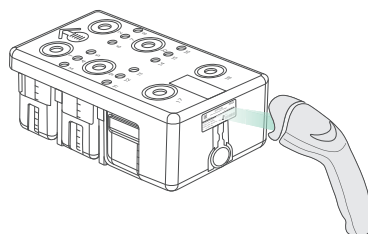


图 19 试剂槽信息录入界面

2. 打开试剂仓门，一只手拉动清洗试剂盒 1 的拉环使其部分移出试剂仓，同时另一只手托住清洗试剂盒 1 的底部，缓慢取出。

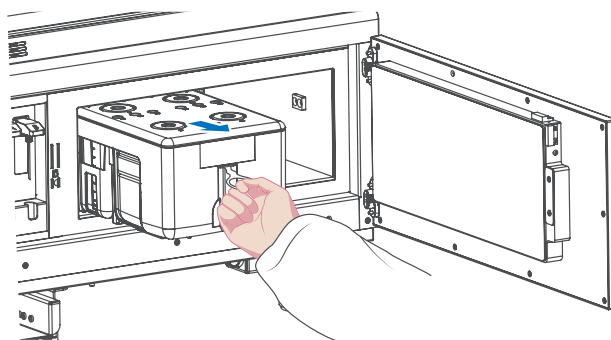


图 20 取出清洗试剂盒

3. 用实验室级用水润湿无尘纸或无尘布，并用其擦拭试剂仓底部及侧面，保持清洁干燥。

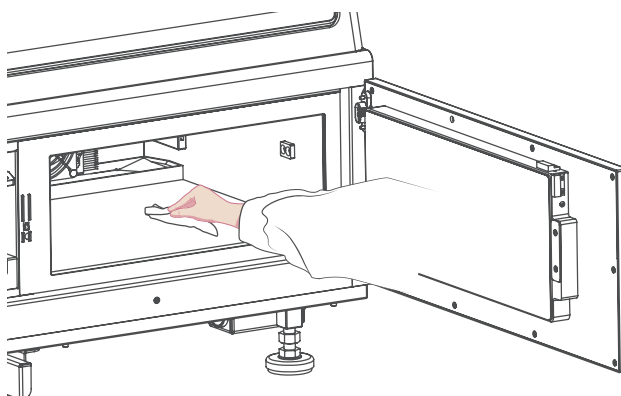


图 21 维护试剂仓

4. 一只手扶住试剂槽侧面，另一只手托住试剂盒底部，按照试剂盒盖板指示方向，把准备好的试剂槽轻轻推进试剂仓，直到推到底部并确认试剂槽完全放入，关闭试剂仓门。

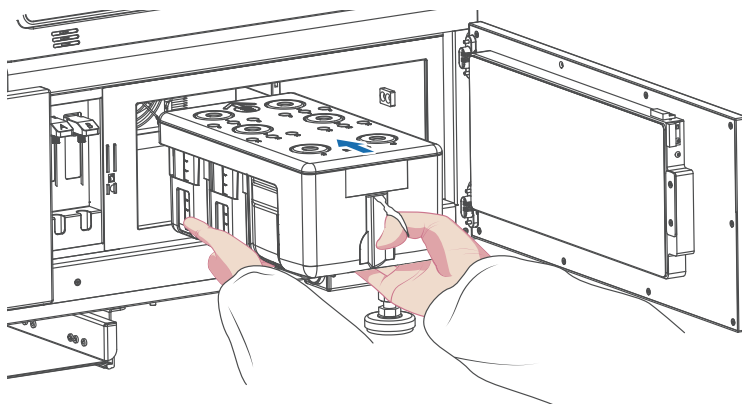


图 22 试剂槽放入示意图

8.5 放置载片

操作步骤如下：

1. 打开载片仓门，一只手压住水洗载片两侧，另一只手按下载片吸附按钮，待真空释放后，将水洗载片从平台上取出。
2. 用空气罐吹净载片平台和载片背面的灰尘，如平台表面有可见结晶，需要用润湿的无尘纸轻轻擦拭，确保载片可以牢固吸附。

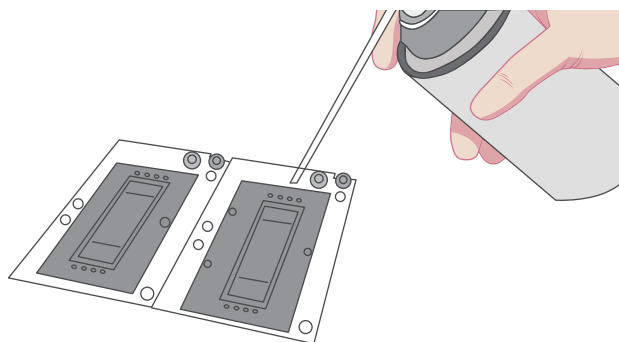


图 23 清洁载片平台

3. 取出新的载片，两孔位置在左侧，一孔位置在右侧，标签位置靠右，双手握住载片两端。

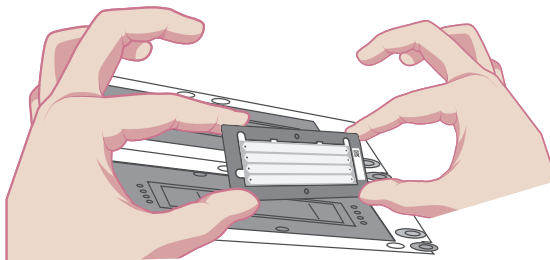


图 24 载片放置

4. 载片孔位对应定位柱放置，同时向左上角 45° 轻轻推动，保持载片空位内壁与定位柱贴合，按下载片吸附按钮，将载片边框左右两边同时按下，使载片吸附在平台上。
-  提示 载片易碎，操作过程请控制力度。
5. 检查负压在正常范围内 $-80 \sim -99$ kPa 方可继续，如负压出现异常，请参考本说明书第 38 页“负压异常”进行处理。
6. 用空气罐吹净载片表面的灰尘，关闭载片仓门。

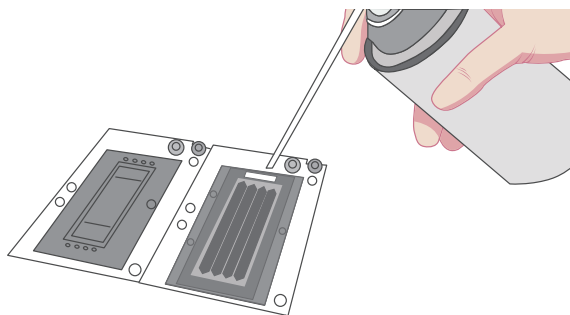


图 25 载片清洁

7. 点击【下一步】，仪器会自动录入载片 ID，如果不能正常自动录入，则把光标移至【载片 ID】后面的待写区域，进行手动输入：

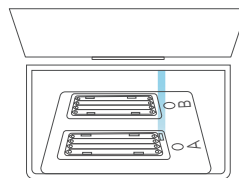


图 26 载片信息录入

8. 点击【下一步】。

8.6 复核信息

对填写的各项信息进行复核，确保准确无误。

 **提示** 为保证测序质量，在完成一链和二链的测序后，测序仪都会自动多测一个循环用于校正。例如，对于 FFPE 文库 **STO_N_25+59+10** 的测序方案，一链读长为 **25**，二链读长为 **59**，**Barcode** 读长为 **10**，一链校正循环为 **1**，二链校正循环为 **1**，**Barcode** 部分不需要做校正，所以总测序读长为 **96**。对于 **FF** 文库 **STO_T_50+100+10** 的测序方案，一链读长为 **50**（**26-40** 循环为暗反应），二链读长为 **100**，**Barcode** 读长为 **10**，一链校正循环为 **1**，二链校正循环为 **1**，**Barcode** 部分不需要做校正，所以总测序读长为 **147**。对于 **ADT** 文库 **STO_P_50+36+10** 的测序方案，一链读长为 **50**（**26-40** 循环为暗反应），二链读长为 **36**，**Barcode** 读长为 **10**，一链校正循环为 **1**，二链校正循环为 **1**，**Barcode** 部分不需要做校正，所以总测序读长为 **98**。

项目	内容
测序模式	StandardMPS
登录用户	user
DNB ID Lane 1	STO-1 1~128
DNB ID Lane 2	STO-2 501~596
DNB ID Lane 3	STO-3 1~128
DNB ID Lane 4	STO-4 501~596
试剂槽ID	W05000012
载片ID	V300001234
测序方案	STO_N_25+59+10
开始阶段	DNB加载
读长	96

图 27 FFPE文库测序信息核对

项目	内容
测序模式	StandardMPS
登录用户	user
DNB ID Lane 1	STO-1 1~128
DNB ID Lane 2	STO-2 501~596
DNB ID Lane 3	STO-3 1~128
DNB ID Lane 4	STO-4 501~596
试剂槽ID	W05000012
载片ID	V300001234
测序方案	STO_T_50+100+10
开始阶段	DNB加载
读长	162

图 28 FF V1.3文库测序信息核对

项目	内容
测序模式	StandardMPS
登录用户	user
DNB ID Lane 1	STO-1 1~128
DNB ID Lane 2	STO-2 501~596
DNB ID Lane 3	STO-3 1~128
DNB ID Lane 4	STO-4 501~596
试剂槽ID	W05000012
载片ID	V300001234
测序方案	STO_P_50+36+10
开始阶段	DNB加载
读长	98

图 29 CITE V1.1-ADT文库测序信息核对

8.7 开始测序

操作步骤如下：

1. 各项信息确认无误后，点击【开始】。
2. 系统再次确认“是否要测序”，点击【是】开始测序



图 30 确认测序界面

3. 开始测序后，立即打开载片仓门，确保样品或试剂顺利进入载片后，关闭载片仓门。

8.8 数据获取

 提示 详细请参考 *MGISEQ-2000 & MGISEQ-2000RS* 基因测序仪软件操作指南。

开始测序后，控制软件将在 D 盘中生成测序结果。

- 以载片 ID 命名的数据文件夹，主要包含图片数据，以及仪器运行过程中的数据（如 metrics 文件）。
- 以载片 ID 命名的结果文件夹，主要包含 FASTQ 文件及报告文件，Bioinfo 文件及 summaryReport 等文件。

第 9 章 清洗维护

9.1 清洗类型介绍

表 21 清洗类型

清洗方法	清洗类型	清洗试剂槽&清洗试剂	适用场景
常规清洗	常规清洗 (54分钟)	清洗试剂槽 1 (实验级用水)	- 进行 SE 测序后。 - 全套清洗维护完成后，超过 24 小时但不到 7 天未进行上机，则需在上机前再次进行。 - 技术支持更换不与试剂接触的配件。 - 除全套清洗维护与深度清洗执行情况外的其他情况。
全套清洗维护	深度清洗 (20 分钟)	清洗试剂槽 3	- 开机状态下，仪器超过 7 天以上未进行使用，系统提示【 请进行维护清洗？ 】。 - 首次使用或使用更新版本控制软件，或手动删除数据记录导致无记录时，系统提示【 请进行维护清洗？ 】。 - 使用测序仪加载样本或 PE 测序后。 - 更换管路、试剂针等与试剂进行接触的配件，使用测序仪前。 - 需进行 7 天以上的断电处理，在断电前后均需执行。 - 载片出现明显杂质，并排除其他因素后。
	深度清洗 (20 分钟)	0.05%Tween-20; 0.05% Tween-20 + 1 M NaCl	
	深度清洗 (20 分钟)	清洗试剂槽2	
	常规清洗 (54分钟)	0.1 M NaOH	
超深度清洗	超深度清洗 (11小时)	清洗试剂槽1 (实验室用水)	- 首次安装或升级安装时。 - 超过14天未清洗时。 - 技术更换管路、试剂针等与试剂进行接触的配件，使用测序仪前。
DNB管清洗 (可选)	DNB管清洗 (5 分钟)	清洗试剂槽1 (实验室用水)	需单独清洗 DNB管路。
	DNB管清洗 (5 分钟)		
	DNB管清洗 (5 分钟)		

9.2 准备清洗试剂

按照下表准备清洗试剂：

表 22 准备 0.05% Tween-20

试剂	用量 (mL)	终浓度
100% Tween-20	0.5	0.05 %
实验室级用水	999.5	/
总体积	1000	
有效期	2~8 °C保存 1 个月	

表 23 准备 1 M NaCl+0.05% Tween-20

试剂	用量 (mL)	终浓度
5 M NaCl 溶液	200	0.05 %
100% Tween-20	0.5	1M
实验室级用水	799.5	/
总体积	1000	
有效期	2~8 °C保存 1 个月	

表 24 准备 0.1 M NaOH

试剂	用量 (mL)	终浓度
2 M NaOH 溶液	50	0.1 M
实验室级用水	950	/
总体积	1000	
有效期	2~8 °C保存 1 个月	

9.3 准备清洗试剂管、清洗试剂槽和清洗载片

9.3.1 准备清洗试剂管及所需试剂

根据下表准备 DNB 试剂针清洗试剂加入 2.0 mL 的无菌管中：

表 25 DNB 试剂针清洗管准备

DNB 试剂针清洗管名称	清洗试剂	体积 (mL)
清洗试剂针管 1	实验级用水	1.8
清洗试剂针管 2	0.1 M NaOH	1.8
清洗试剂针管 3	0.05% Tween-20+1M NaCl	1.8

9.3.2 准备清洗试剂槽

表 26 清洗试剂槽准备

清洗试剂槽名称	孔位	清洗试剂	体积 (mL)
清洗试剂槽 1	1, 9, 10	实验级用水	300
	2		380
	17, 18		700
	3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 15, 16		9
清洗试剂槽 2	1, 2, 9, 10, 17, 18	0.1 M NaOH	50
	3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 15, 16		8.5

清洗试剂槽名称	孔位	清洗试剂	体积（mL）
清洗试剂槽 3	1, 2, 9, 10, 17, 18	0.05% Tween-20	50
	3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 14, 16		8.5
	15	0.05% Tween-20 +1M NaCl	8.5

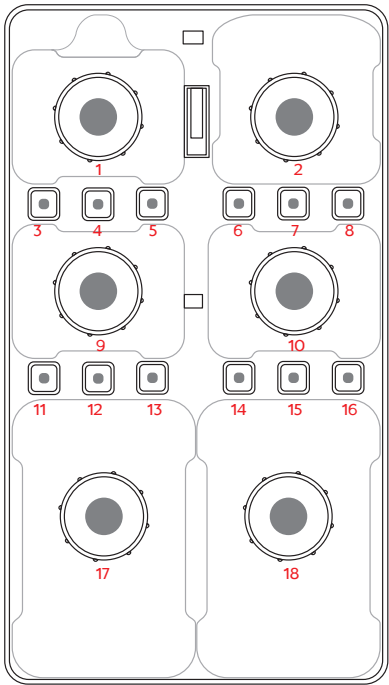


图 31 清洗试剂槽孔位示意图

-  提示
- 大孔位：第 1、2、9、10、17、18 号孔位。
 - 小孔位：第 3、4、5、6、7、8、11、12、13、14、15、16 号孔位。

9.3.3 准备清洗载片

清洗载片可使用下机的废旧载片，每张可循环使用 20 次维护清洗。

9.4 清洗流程

9.4.1 常规清洗（约 54 分钟）

操作步骤如下：

1. 测序开始前，登录账户，点击主界面的【清洗】，或在测序完成界面，点击【清洗】。



图 32 清洗指导界面

2. 按照清洗试剂槽盖板指示方向，把准备好的清洗试剂槽 1 缓缓推入试剂仓底。
3. 将清洗试剂管 1 置于样本管座，关上试剂仓门。
4. 放入清洗载片，确保载片吸附牢固，具体步骤可参考第 24 页“放置载片”。
5. 进入清洗界面，点击【清洗类型】右侧的下拉列表，选择【常规清洗】开始清洗，用时约 54 分钟。

 提示 清洗过程中仔细观察清洗载片中是否出现气泡。若出现气泡，立刻暂停清洗，更换载片重新开始清洗。



图 33 选择清洗类型

9.4.2 全套维护清洗（约 94 分钟）

操作步骤如下：

1. 测序开始前，登录账户，点击主界面的【清洗】，或在测序完成界面，点击【清洗】。
2. 按照清洗试剂槽盖板指示方向，把准备好的清洗试剂槽 3 缓缓推入试剂仓底。
3. 将清洗试剂管 3 置于样本管座。关上试剂仓门。在界面点击清洗按钮。
4. 放入清洗载片，确保载片吸附牢固。具体步骤可参考第 24 页“放置载片”。

5. 进入清洗界面，点击【清洗类型】右侧的下拉列表，选择【深度清洗】开始清洗，用时约 20 分钟。
6. 若出现如下弹窗，选择【是】，仪器自动抬针。



图 34 深度清洗【2】弹窗

7. 按照清洗试剂槽盖板指示方向，把准备好的清洗试剂槽 2 缓缓推入试剂仓底。
8. 将清洗试剂管 2 置于样本管座。关上试剂仓门。
9. 点击【清洗类型】右侧的下拉列表，选择【深度清洗】开始清洗，用时约 20 分钟。
10. 若出现如下弹窗，选择【否】，仪器自动抬针。



图 35 深度清洗【3】弹窗

11. 按照清洗试剂槽盖板指示方向，把准备好的清洗试剂槽 1 缓缓推入试剂仓底。
12. 将清洗试剂管 1 置于样本管座。关上试剂仓门。
13. 点击【清洗类型】右侧的下拉列表，选择【常规清洗】开始清洗，用时约 54 分钟。

14. 当显示界面如下时，维护清洗结束。



图 36 维护清洗结束界面

9.4.3 超深度清洗（约 11 小时）

首次安装、升级安装或者超过 14 天未清洗时，需进行一次超深度清洗。
操作步骤如下：

- 1. 测序开始前，登录账户，点击主界面的【清洗】，或在测序完成界面，点击【清洗】。
- 2. 按照清洗试剂槽盖板指示方向，把准备好的清洗试剂槽 1 缓缓推入试剂仓底。
- 3. 将清洗试剂管 1 置于样本管座。关上试剂仓门。
- 4. 放入清洗载片，确保载片吸附牢固。具体步骤可参考第 24 页“放置载片”。
- 5. 进入清洗界面，点击【清洗类型】右侧的下拉列表，选择【超深度清洗】开始清洗，用时约 11 小时。



图 37 选择清洗类型

9.4.4 （可选）DNB 管清洗（约 15 分钟）

常规清洗和全面清洗维护完成后，若需额外清洗 DNB 管路，按以下步骤操作：

 提示 DNB 管清洗进行时，样本管不下针，清洗试剂槽无需更换。

- 1. 测序开始前，登录账户，点击主界面的【清洗】，或在测序完成界面，点击【清洗】。
- 2. 按照清洗试剂槽盖板指示方向，把准备好的清洗试剂槽 1 缓缓推入试剂仓底。
- 3. 将清洗试剂管 3 置于样本管座。关上试剂仓门。
- 4. 放入清洗载片，确保载片吸附牢固。具体步骤可参考第 24 页“放置载片”。

5. 进入清洗界面，点击【清洗类型】右侧的下拉列表，选择【DNB 管清洗】开始清洗，用时约 5 分钟。



图 38 选择清洗类型

6. 点击【返回】回到主界面。
7. 将清洗试剂管 2 置于样本管座。关上试剂仓门。
8. 重复步骤 5~6。
9. 将清洗试剂管 1 置于样本管座。关上试剂仓门。
10. 进入清洗界面，点击【清洗类型】右侧的下拉列表，选择【DNB 管清洗】开始清洗，用时约 5 分钟。
11. 约 5 分钟。

第 10 章 异常处理

10.1 DNB 浓度低

当 DNB 浓度低于 8 ng/μL 时，请进行如下操作排查问题：

- 检查所用试剂盒是否过期。
- 检查文库是否符合要求。
- DNB 重新制备后仍不符合要求，请联系工程师。

10.2 PE 测序时忘记加 15 号孔位的试剂

MDA 酶是 PE 测序二链生成的关键试剂，如果在测序试剂槽准备阶段忘记加 MDA 混合液到 15 号孔，且测序进程在一链测序阶段，可以执行如下操作。

操作步骤如下：

1. 暂停测序：一链测序阶段当测序处于阶段 3/3，且屏幕上显示进程在 17 号或 18 号孔位时，选择 ，然后选择【是】，如下图所示：

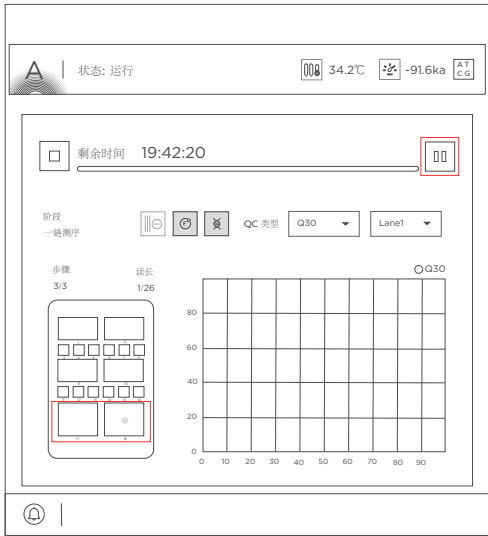


图 39 选择暂停测序

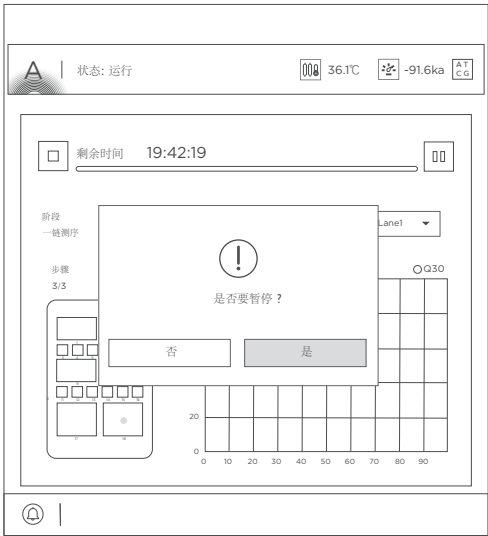


图 40 确认暂停测序

2. 抬升试剂针：点击 ，选择【是】，抬升试剂针，如下所示：

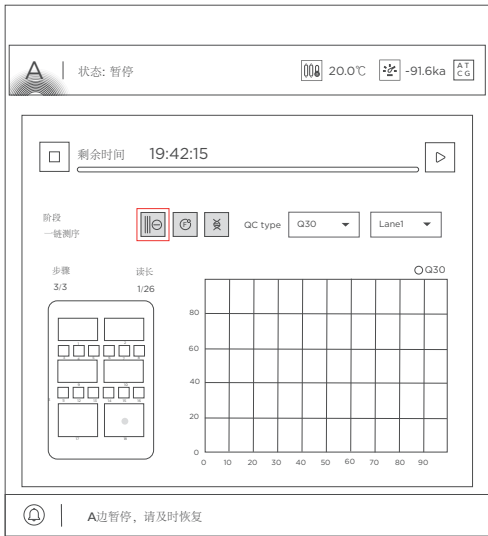


图 41 抬升试剂针

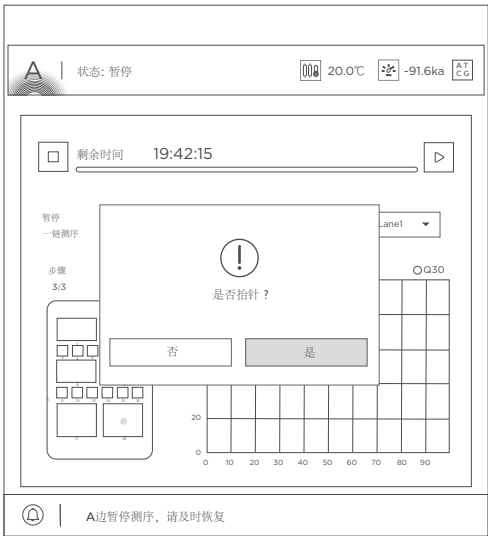


图 42 确认抬升试剂针

3. 准备测序试剂槽：打开试剂仓门，取出测序试剂槽，根据第 15 页“准备测序试剂槽”加入 MDA 混合液到 15 号孔位中。
4. 恢复测序：将试剂槽放回试剂仓，关闭试剂仓门，点击 ，选择【是】恢复测序，如下所示：

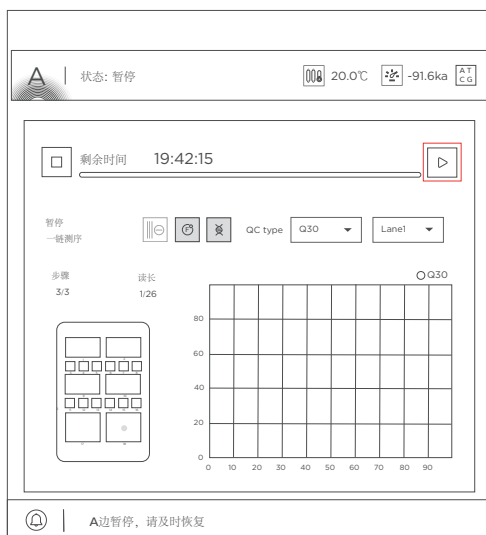


图 43 选择恢复测序

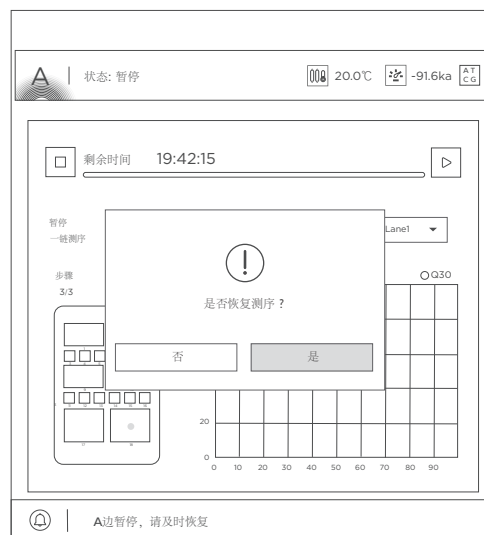


图 44 确认恢复测序

恢复测序后试剂针将自动下降，测序仪会将试剂泵入测序载片中继续进行一链测序。

10.3 试剂盒暂存

- 如试剂盒已经融化（包括 dNTPs），且不能按时使用，最多可再冻融一次。
- 如试剂盒已经融化（包括 dNTPs），且不能按时使用，可放在 4 °C 内暂存，并于 24 小时内使用，使用前需要按照第 15 页“准备测序试剂槽”中的操作重新混匀试剂。
- 如 dNTPs 和 DNA 聚合酶混合液 II 已经加入试剂盒中，即试剂盒已经准备完毕，若不能及时使用，可放在 4 °C 内暂存，并于 24 小时内使用，使用前需要按照第 15 页“准备测序试剂槽”中的操作重新混匀试剂。
- 如 dNTPs 和 DNA 聚合酶混合液 II 已经加入试剂槽中，即试剂槽已经准备完毕，且已经在仪器上下针，若不能及时使用，务必使用锡箔纸或保鲜膜密封，可放在 4 °C 内暂存，并于 24 小时内使用，使用前轻轻混匀试剂槽，混匀时务必小心试剂不可从下针孔位中溢出，以免各孔位试剂之间污染影响测序质量。

10.4 负压异常

当负压数值显示为红色时，负压异常，请进行如下操作：

- 使用润湿的无尘纸或无尘布轻轻擦拭平台表面，并用压缩空气罐吹净平台，确保无可见尘埃。
- 使用压缩空气罐吹净载片背面，确保无可见尘埃。
- 如以上方法仍无法解决异常负压，请联系工程师。

10.5 出现杂质

- 根据第 33 页“全套维护清洗（约 94 分钟）”对测序仪进行维护清洗。
- 经过维护清洗后仍无改善，请联系工程师。

10.6 泵液失败

如果出现载片不过液，或是载片中出现大气泡的现象，请进行如下操作：

- 测序仪：取下载片，检查密封垫是否有杂质，用空气罐吹净，并按照第 24 页“放置载片”的正确指导方式安装载片，重试。
- 检查试剂针是否正常下针。
- 如试剂针无法正常下针，重新启动测序软件。
- 重启后仍无法正常进行，请联系工程师。

附录 1 使用 Qubit 进行 DNB 定量操作指导

 提示 • Working solution 配制后需在 30 分钟内使用。

- 禁止碰触检测管的锥形管壁。
- 检测管中不能有气泡。

操作步骤如下：

1. 配制 Qubit working solution:

- 1) 混匀 Qubit ssDNA Buffer 与 Qubit ssDNA Reagent，在避光管里以 199:1 的比例混合。
- 2) 漩涡震荡混匀后用迷你离心机短暂离心 5 秒，放置待用。

 提示 • 每个样本 DNB 定量需要配置 200 μL Qubit Working solution。

- 建立标准曲线另需 2 个 200 μL Qubit Working solution。

2. 准备 2 + N 个 Qubit 检测管, 分别标注 S1 (Qubit ssDNA standard#1 0 ng/ μL)、S2 (Qubit ssDNA standard#2 20 ng/ μL)、D1 (待测样本 DNB)、D2 (待测样本 DNB)、D3 (待测样本 DNB) 等。

3. 按照下表准备标准管及待测样本管:

Component	S1 (μL)	S2 (μL)	D1 (μL)	D2 (μL)	D3 (μL)
Working solution	190	190	198	198	198
S1 (0 ng/ μL)	10	/	/	/	/
S2 (20 ng/ μL)	/	10	/	/	/
待测样本 DNB	/	/	2	2	2
总体积	200	200	200	200	200

4. 将准备好的样本管及标准液管漩涡震荡混匀，瞬时离心 5 秒，避光孵育 2 分钟，孵育结束后，可进行下一步。
5. 按照 Qubit 使用说明书，选择 ssDNA 检测通道，分别放入标准液 S1 和标准液 S2 建立标准曲线，曲线生成后把 S2 当成样本测定 1 次。此时，样本投入量选择 10 μL ，单位 ng/ μL 。

 提示 • 当测定值在 19.9 ~ 20 ng/ μL 时，则认为此次的标准曲线为合格，可以用来检测样本。若不在这个范围，再次混匀后重新建立标准曲线。

- S2 在合格范围内才可使用该标准曲线，否则重新配制标准品。

6. 放入待测样本管，样本投入量选择 2 μL ，单位 ng/ μL ，测量并记录测量出的数值。

附录 2 制造商信息

生产企业名称	武汉华大智造科技有限公司
生产地址	中国武汉市东湖新技术开发区高新二路 388 号武汉光谷国际生物医药企业加速器 3.1 期 24 栋
	中国武汉市东湖新技术开发区高新大道 818 号 B13 栋
客服电话	4000-688-114
技术支持	MGI-service@mgi-tech.com
网址	www.mgi-tech.com

--- 此页有意留白 ---