

ICS 07.080

A 40

体

准

T/SZGIA 3-2018

---

入前

传

The Standard of High-throughout Sequencing in Preimplantation Genetic  
Screening techniques

2018-12-10

2018-12-11

---

深圳基因产学研资联盟

# 前

分 写 了 GB/T 1.1-2009 出 则 写。

分 产 出 。

分 位： 公 ， 产 ， 人

， 保健 ， 准 与

分主 人： 、 、 、 、 、 倩一、 佳 、

、 军、 、

分为 。

# 入前 传

1

准 了 入前 传 中 前、中、

。

准 于人体 入前 , 于

人体 初 估 入前 传 。

2 件

下列 件 于 件 不 。凡 件,仅  
于 件。凡 不 件,其 ( 修 ) 于 件。

GB/T 27025 准 力

GB/T 29859-2013 信

GB/T 30989-2014

GB/T 35537-2017 价

SZDB/Z 53-2012 儿“21-三体” 准

SZTT/SZGIA 2-2018 人 全 传

3 与 义

下列 与 义 于 准。

3.1

sequencing

列 , 分 (A)、 (G)、  
(C)、 (T) (U) 列 。

1: GB/T 29859-2013。

3.2

high-throughput gene sequencing

别于传 Sanger ( ) , 一 分 列  
, 一 产出不低于100Mb 。

1: SZDB/Z 53-2012。

### 3.3

single run sequencing

DNA 列到一，列上。  
了。分为SE50、SE90、SE100，分别为50bp、90bp、100bp。

: SZTT/SZGIA 2-2018

### 3.4

sequencing throughput

仪列信（以列“reads”）。

: GB/T 35537-2017

### 3.5

Q20, Q30

中，一个会出一个值，个值准。  
。值20为1%，30为0.1%。业中Q20与Q30则值≥20  
30分。

: GB/T 30989-2014

### 3.6

GC

DNA分中，(Guanine) (Cytosine) 例。

1: SZDB/Z 53-2012

### 3.7

DNA  $OD_{260}/OD_{280}$

DNA判  $OD_{260}/OD_{280}$  值判，、DNA其  $OD_{260}/OD_{280}$

1.8，低于，于中RNA。

## 4

下列于件。

OD—光 (optical density)

bp— (base pair):

DNA— (Deoxyribonucleic Acid)

RNA— (Ribonucleic Acid)  
 dNTP— 三 (deoxy-ribonucleotide triphosphate)  
 PCR— (Polymerase Chain Reaction)  
 SNP— (Single Nucleotide Polymorphisms)  
 DNB—DNA (DNA nanoball)  
 UR— 到一位 reads (unique reads)  
 dup— (Duplication)  
 SE— (single read)  
 CNV—全 (Copy number variations)

## 5 件

### 5.1

#### 5.1.1

、 书。 ，  
 ， ； 不 ， 、 。 : —  
 使 1.5mL ； 上上 一 ，为 中 ，  
 上 写上 。 ， 使 与 ，  
 ， 免以 使 ， 到内 况；  
 Parafilm ，以 。 充 中 ，再于  
 冰内， 保 冰剩余。

#### 5.1.2 入、出

， ， 入 。 前，  
 出 ， 入 。

### 5.2

#### 5.2.1

DNA  $OD_{260}/OD_{280}$ 值 1.8~2.0 之 ， 、 RNA ， DNA  
 。 不 ， 先 ， 再 。

#### 5.2.2

到 产 于 于30ng/ul。

#### 5.2.3

到 产 于 于1ug

#### 5.2.4

不低于250bp, 且不 于2000bp, 主 750bp 。

#### 5.3

300ng。使 , DNA 主 为150-250bp  
DNA。 , 再 修 、 、 PCR , 。

#### 5.4

, 于 于2ng/ul; 上 前  
, 制 DNA (DNB) 于 于10ng/ul。

#### 5.5 上

上 为 , reads 为35bp (SE35) 。

#### 5.6

Q20 于 于90%, UR 于 于3M, dup 例 于10%; GC [38, 46]。

#### 5.7 信 分

准 别 体 倍体 于4M 。

#### 5.8 使 件

A 出了 中主 仪 使 件。

### 6 主 仪

#### 6.1

中使 到 仪 划 仪 ,  
仪 准, 保 仪 于 。

#### 6.2 PCR 仪

PCR 仪 主 于 中 。 0-105°C; 30-110°C;  
0.1; 准 ±0.1@55°C; 一 <0.3@55°C; 5°C

/s; ; 30-105°C; 1-42°C。冰上  
 , 体 50ul, 以下 PCR :

		Cycles
72°C	3min	1
98°C	30s	1
98°C	10s	5
60°C	30s	
72°C	3min	
72°C	5min	1
4°C	Hold	

### 6.3 仪

仪主 作上 前 , 为2 ng/ μL dsDNA。 ,  
 体 100ul, “Exku” 上 , 击 “Change layout”  
 , 出 光值 判 。

### 6.4 仪

仪主 于 DNA 列 仪 。  
 先 仪 , 上 剂 准 ,  
 仪 上 上 。

## 7 入前 体



### 7.1 制

全 DNA产 主 。  
入 。

### 7.2

为300ng。前使 NEB DNA 主 为150-200bp DNA。  
Axygen Beads ， DNA 修 、 、PCR ，  
。 BMG 、制 DNA 上 。

### 7.3 上

利 ( 个dNTP 入 ， 光  
像， 切割以利于下一个 。 个 中，  
dNTP ， 争 减 了 入偏 。 个 ， 了  
准 ) ， 到 光信 ， 到 个 DNA 列。



## 7.4 信 分

与人 ， CNV 入 reads  
CNV ， 出 CNV信 。

## 8 制

### 8.1 前 制

、 、 准以 中 全  
内 。

#### 8.1.1

保 信 ( 准 、 别 信 ) 准 保 。  
准 养 全 DNA ， 使 NEB公 PicoPLEXTM WGA kit  
( E2620S, E2620L) Sigma公 GenomePlex® Single Cell WGA kit ( WGA4-50RXN,  
WGA4-10RXN) 剂 ， 严 剂 书 全 DNA。

#### 8.1.2

， ， 使 到 准， 于  
， 关 全 。DNA 产 冰 件下 ， 保  
冰剩余 ( 冰 : 1 到 ， 冰  
为8kg； 两 到 ， 冰 为12kg； 3 到 ， 冰 为  
15kg) 。

#### 8.1.3

到 ， 与 人 交 ， 、 ，  
( 、 冰剩余、 内、 、  
、信 不全 ) ， 个 信 入到信 。

个 中， 一 别 分， 免  
保 个人信 。

### 8.2 中 制

中，到件中值，件中  
低值，不停。

### 8.3 制

分人出具，专出（具副  
人），“人+专”制，保个。  
供100%与一，信100%与临信一，信  
中。

### 8.4

#### 8.4.1 人

个，健全人与  
估体。个作人全、作力专，  
个作力估，不作人再再估，保作人  
力从事。

#### 8.4.2 仪

中使仪准作书，仪作人  
，上作。仪划  
，仪准，保仪于。

#### 8.4.3

供，供价。供、保  
准。供，于。

#### 8.4.4

严估临，保  
。

#### 8.4.5

严 临 以 全 ，  
严 分 、 一 ， 、 以 ，  
以保 中 。

# A

( )

中 仪 使 件

仪 作 件 下:

- a) :  $(18 \pm 5)^\circ\text{C}$ ,  $18^\circ\text{C}$ ;
- b) : 不 于 80%, 不低于 20%。
- c) 作 : 220V, 具  $\pm 10\%$  , 为 50Hz;
- d) : 不 于 2.5A;
- e) 保 : 不 1500W UPS;
- f) : 冲 ; 到 1Hz 别。

B

( )

一、

1、保

1.1 DNA 冰 ， 不 3 ， 到 保 冰剩余。

1.2 中 于 冲 内,以 到保 作 。

1.3 中 免 、 ， 以免 ， 。

1.4

，保 内到 。

出

， 公 决, 人 人

决 。

1.5 信 入与入

信 信 入, 入严 《 信 入 则》,

人 ， 一人 入, 一人 。

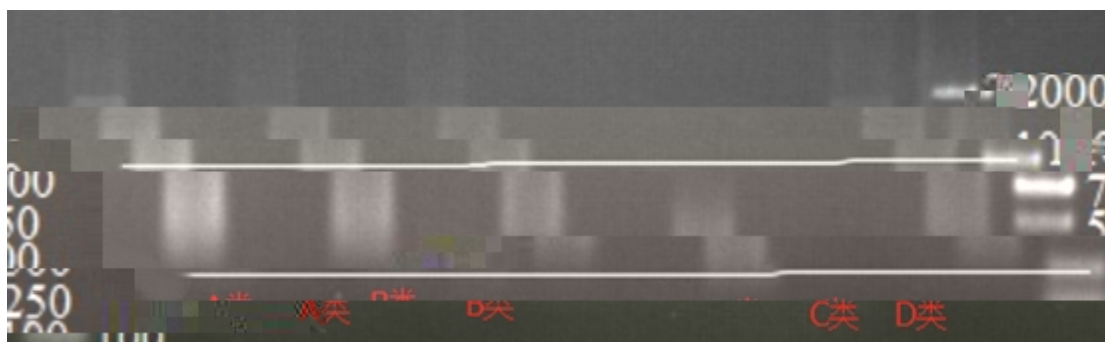
储 于-20℃ 。

2、PGS 产 DNA ， 体 以 ， 判 ：

	判 准
A	2 以上 ，
B	1 但不 2 ，
C	1 以上 ， 但 偏 偏

D 不 1 □□ □□ □□ □

以 ， 于A 、B ， 一 到 95%以上。  
下：



## 二、 Sigma WGA kit 作

### 1、 前

剂使 前 ( ), 保 充分 。

### 2、 中

: PBS 一例 ;

: 剂 内 Control DNA (例 养 ) 。

### 3、 PGS- ——Sigma 剂 作

#### 3.1

- 估 体 , 以 入 估, 体 9ul。
- 准 冲 : K: 10\* =1: 16, 2 ul K 于 32 ul 10\* 中, 。
- 1) 中 入 1 ul 制 冲 , 。
- 上一 到 : 50°C 1h, 99°C 4min ( ), 冰上冷 , 。

#### 3.2 制

- 产 中 入 2 ul 1\*single cell Library Preparation Buffer。
- 再 入 1 ul library stabilization solution。
- , 95°C 2min。
- 冰上冷 , , 再 于冰上。
- 入 1 ul library Preparation Enzyme, 。
- : 16°C 20min, 24°C 20min, 37°C 20min, 75°C 5min, 4°C hold。
- 从 仪上 下 , -20°C保 3 。

#### 3.3

- 以上 产 中 入以下 剂:

7.5 ul of 10\*Amplification Master Mix; 48.5 ul of Water, Molecular Biology Reagent;

5.0 ul of WGA DNA Polymerase

● , , :

95°C 3min; 94°C 30s ; 65°C 5min ; 4°C forever, , -20°C  
保 。

4、

4.1 75% 使 , 刻 到 于  
上。

4.2 写 关 。

4.3 分 。

4.4 净 作 30-45min



三、 任

件 :  
:

任

:

:

			(ng/ul)	(ul)	ddH2O (ul)	
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						

件：  
：

任：

人：

位

(ng/ul)

(ul)

H<sub>2</sub>O (ul)

barcode

barcode 位

A1

B1

C1

D1

E1

F1

G1

H1

人：

剂

MIX

入

MIX 作人：

人：

)□□□ □□ □ □□ □□□□□

入前 体 倍体 剂 制 价 ( )  
GB/T 27025 准 力  
GB/T 29859-2013 信  
GB/T 30989-2014  
GB/T 35537-2017 价  
SZDB/Z 53-2012 儿 “21-三体 ” 准  
SZTT/SZGIA 2-2018 人 全 传  
入前 传 ( )