

新冠测序组合产品 (V3.1)

■ 产品组合特点

多项优质技术整合

文库制备环节，在 MGISP-100RS 自动化样本制备系统上集成了 ATOplex 多重 PCR 技术、Fast PCR-FREE 建库技术与 One Step DNB 制备技术；测序与数据处理环节，使用 MGISEQ-200RS 测序仪进行 SE100 的快速测序策略，待测序完成后 MGI metargetCOVID 能够无缝执行数据的自动化处理。

极速的运行时间

24 小时内能够以最多 16 份样本的通量完成从 RNA 到数据处理的全流程，其中文库构建环节约 9 小时，测序环节约 12 小时，数据处理不到 1 小时。

超高的测序检测灵敏度

适用于对 SARS-CoV-2 Ct 值 ≤ 35 的样本进行高通量测序，借助 ATOplex 多重 PCR 技术可以获取 SARS-CoV-2 全基因组高覆盖度的测序数据。

自动化实验与数据处理

借助 MGISP-100RS 自动化样本制备系统能够帮助实验中的多个环节实现自动化，MGI metargetCOVID 软件可以无缝连接测序数据与数据处理流程，实现结果自动输出，极大程度上减少全流程对于人工的依赖。

出色的数据质量

DNB 和 cPAS 技术保证测序准确度和测序效率，从而提供高质量的测序数据。

■ 产品概述

新冠测序组合产品 (V3.1) 以华大智造自主研发的试剂、自动化样本制备系统、高通量测序平台以及数据处理系统为基础，涵盖从 RNA 到结果输出的全流程，部分实验流程与全部数据处理流程可实现自动化运行。本组合产品可对已证明 SARS-CoV-2 阳性的 RNA 样本进行快速、准确、全面的高通量测序，从而为 SARS-CoV-2 样本的变异检测、变异位点基因注释和变异支系鉴别、溯源等提供重要参考。

基于 ATOplex 多重 PCR 技术的建库系统可以为 SARS-CoV-2 的全基因组测序提供了一个经济有效且快速便捷的实验方法，能够对极低含量的病毒进行上百万倍的扩增富集，结合 MGISEQ-200RS 桌面型单载片基因测序平台获得高精度的病毒全基因组测序信息。MGI metargetCOVID 软件定位 SARS-CoV-2 的检测和变异位点分析，同时还提供了毒株溯源结果，可供使用者快速识别样本中是否含有 SARS-CoV-2，并且对鉴定出阳性的样本进行变异支系确定。

■ 方法

样本采用SARS-CoV-2 RNA标准品（序列信息与SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1，GenBank: MN908947.3一致）。将病毒RNA标准品分别稀释至每一反应体系含有400、4000拷贝数（样本分别命名为S400，S4000），使用ATOplex RNA多重PCR扩增试剂盒套装V3.1（16 RXN，货号：940-000119-00）对样本进行反转录与多重PCR扩增。使用MGIEasy Fast PCR-FREE酶切文库制备试剂套装（16 RXN，货号：940-000019-00）、DNBSEQ 一步法DNB制备试剂盒（OS-DB）（货号：1000026466）在MGISP-100RS自动化样本制备系统（货号：900-000070-00）上进行自动化文库与DNB制备。

使用MGISEQ-200RS高通量快速测序试剂套装（FCS SE100）（货号：1000019845）进行SE100测序。

使用MGI metargetCOVID软件（货号：970-000228-00）对测序数据进行变异检测、变异位点基因注释和变异支系鉴别等。

■ 结果

数据总览

表1 数据总览

样本编号	原始reads	Q30(%)	GC含量(%)	比对率(%)	新冠病毒占比(%)	1x覆盖(%)	鉴定结果
S400	2067184	94.36	43.21	85.88	87.81	99.75	Positive
S4000	3195093	95.53	39.37	98.75	97.02	99.75	Positive

测序质控

利用 MGI metargetCOVID 软件对 MGISEQ-200RS 的下机数据进行质控、过滤，SE100 测序数据 Q30 > 94%，表现出极高的测序质量。详细测序数据见表 2。

表2 MGISEQ-200RS FCS SE100测序质控

样本编号	S400		S4000	
	原始read1	过滤后read1	原始read1	过滤后read1
Read length	100	100	100	100
Total number of reads	2067184 (100.00%)	2057541 (100.00%)	3195093 (100.00%)	3192686 (100.00%)
Number of filtered reads	9643 (0.47%)	-	2407 (0.08%)	-
Reads with n rate exceed	0 (0.00%)	-	0 (0.00%)	-
Reads with low quality	0 (0.00%)	-	0 (0.00%)	-
Reads with adapter	9643 (100%)	-	2407 (100%)	-
Total number of bases	206718400 (100.00%)	205754100 (100.00%)	319509300 (100.00%)	319268600 (100.00%)
Number of filtered bases	964300 (0.47%)	-	240700 (0.08%)	-
Number of base A	59174333 (28.63%)	58901662 (28.63%)	97547856 (30.53%)	97476837 (30.53%)
Number of base C	43890194 (21.23%)	43692147 (21.24%)	61989049 (19.40%)	61944638 (19.40%)
Number of base G	45443655 (21.98%)	45184055 (21.96%)	63801596 (19.97%)	63741303 (19.96%)
Number of base T	58200122 (28.15%)	57966198 (28.17%)	96164702 (30.10%)	96099741 (30.10%)
Number of base N	10096 (0.00%)	10038 (0.00%)	6097 (0.00%)	6081 (0.00%)
Q20	98.25%	98.25%	98.31%	98.31%
Q30	94.36%	94.37%	95.53%	95.53%

比对信息

使用SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1, complete genome (GenBank: MN908947.3) 作为新冠病毒参考基因组进行分析。在获得质控合格的reads后, 将这些reads与参考基因组进行比对。比对过程会对比对条目进行过滤筛选, 标准是保留Clip≤10且比对质量≥20的条目。表3展示了质控合格reads与参考基因组比对后的相关统计信息, 包括的reads总数, 新冠病毒reads占比, 鉴定结果等。表4和5、图 1和2分别展示了样本S400, S4000质控合格的reads在参考基因组及其各基因区域的覆盖度, 深度等统计信息。

表3 质控合格reads与参考基因组的相关统计信息

样本编号	参考基因组长度 (bp)	新冠病毒 reads数目	GAPDH reads数目	SPIKE-IN CONTROL reads数目	新冠病毒 reads占比(%)	鉴定结果	新冠浓度 (copies/ml)
S400	29903	1422490	147028	197494	87.81	Positive	5920.62
S4000	29903	2992549	68292	91856	97.02	Positive	37898.51

表4 样本S400质控合格的reads在参考基因组及各基因区域的统计信息

基因区域	平均深度	中位数深度	覆盖率	4x覆盖(%)	10x覆盖(%)	30x覆盖(%)	100x覆盖(%)
全基因组	3948.87	2773.0	99.75	99.75	99.75	99.74	99.61
5'UTR	4296.58	5903.0	91.29	91.29	91.29	90.91	90.15
ORF1ab	3317.66	2472.0	100.00	100.00	100.00	100.00	99.85
S	4270.85	3206.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ORF3a	2682.12	1986.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
E	2485.95	1442.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
M	5340.68	5072.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ORF6	3107.80	3205.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ORF7a	5869.19	6446.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ORF8	7191.73	3376.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
N	11151.42	9917.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ORF10	12724.68	12893.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
3'UTR	4485.14	1214.0	77.63	77.63	77.19	76.32	74.12

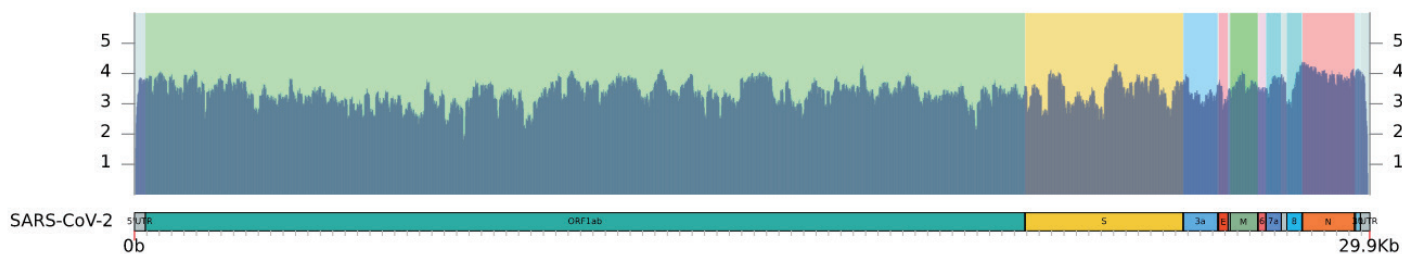


图1 S400中质控合格的reads在参考基因组各基因区域的深度覆盖图

表5 样本S4000质控合格的reads在参考基因组及各基因区域的统计信息

基因区域	平均深度	中位数深度	覆盖率	4x覆盖(%)	10x覆盖(%)	30x覆盖(%)	100x覆盖(%)
全基因组	8329.67	7877.0	99.75	99.75	99.75	99.75	99.74
5'UTR	8119.38	10749.0	91.29	91.29	91.29	91.29	91.29
ORF1ab	7920.10	7443.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
S	8250.37	7927.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ORF3a	7149.55	7434.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
E	5729.41	6260.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
M	10979.08	10996.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ORF6	8383.91	8682.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ORF7a	10457.10	10607.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ORF8	11071.37	9011.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
N	13145.21	13008.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ORF10	14800.66	14730.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
3'UTR	5207.87	2365.0	77.63	77.63	77.19	77.19	76.32

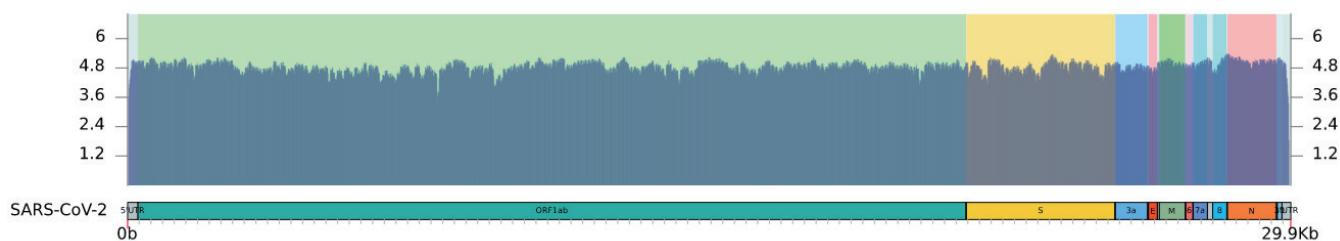


图2 S4000中质控合格的reads在参考基因组各基因区域的深度覆盖图

变异识别与注释

MGI metargetCOVID能够再深入分析单核苷酸多态性（SNP）和插入缺失（Indel），检测方法为采用FreeBayes搜索序列比对结果中的SNP和Indel位点，得到突变位点后对突变位点进一步过滤及位置注释。但因为实验中使用的新型冠状病毒RNA标准品是依据SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1（MN908947.3，complete genome）进行序列合成的，所以本测试中未识别出任何SNP与Indel变异。

毒株分型

基于比对获得的新冠病毒一致性序列，通过算法分配到已完成株型区分的新冠病毒进化树上，并分配一致性序列的进化枝 ID 信息。同时，还借助 Pangolin 工具计算得出新冠病毒谱系，相关统计信息见表 6。

表6 分析出的新冠病毒谱系信息

样本编号	组装序列大小	N碱基数目	SNPs数目	INs数目	DELs数目	进化枝编号	谱系编号
S400	29903	75(0.25%)	0	0	0	19A	B
S4000	29903	75(0.25%)	0	0	0	19A	B

■ 总结

基于华大智造自主研发的试剂、自动化样本制备系统、高通量测序平台，搭载自主开发 MGI metargetCOVID 软件的新冠测序组合产品 (V3.1) 能够快速进行高质量的 SARS-CoV-2 全基因组测序、比对、变异分析与毒株分型等，是一款面向新冠病毒测序与溯源分析的理想产品，能够帮助您更快速、更便捷、更准确地实现您的研究目标。

订购信息

产品名称	规格	货号
自动化样本制备系统及测序仪		
MGISP-100RS 自动化样本制备系统	标准配置	900-000070-00
基因测序仪 MGISEQ-200RS	配置2	900-000350-00
文库与DNB制备试剂		
ATOPlex RNA 多重PCR建库试剂盒套装V3.1	16 RXN	940-000132-00
DNBSEQ 一步法DNB制备试剂盒 (OS-DB)	4 RXN	1000026466
测序试剂		
MGISEQ-200RS 高通量快速测序试剂套装	FCS SE100	1000019845
CPAS 条形码引物4试剂盒	3.5 ml	1000014048
数据处理系统		
MGI metargetCOVID 软件	V1.4	970-000228-00

■ 联系我们

深圳华大智造科技股份有限公司
地址：深圳市盐田区北山工业区综合楼，518083
邮箱：MGI-service@mgi-tech.com
网址：www.mgi-tech.com
电话：4000-688-114
版本：2022年11月版 | MGPA051810102-07



<https://www.linkedin.com/company/mgi-bgi>



https://twitter.com/MGI_BGI



官方微信



官方网站

版权声明：

本手册版权属于深圳华大智造科技股份有限公司所有，未经本公司书面许可，任何其他个人或组织不得以任何形式将本手册中的各项内容进行复制、拷贝、编辑或翻译为其他语言。本手册中所有商标或标识均属于深圳华大智造科技股份有限公司及其提供者所有。