

# MGIEasy 呼吸道微生物基因组扩增试剂盒

- 甲乙流全基因组扩增

## ✔ MGIEasy 呼吸道微生物基因组扩增试剂盒用途

该试剂盒主要用于流感毒株型别鉴定和毒株全基因组组装,适用样本包括培养毒株、咽拭子、肺泡灌洗液等样本。

## ✔ 包含哪些毒株

包括 H1-H16, N1-N9 型别的病毒毒株,其中包括但不限于人最常见感染的毒株型别;  
H1N1, H2N2, H3N2, H5N1, H7N1, H7N2, H7N7, H7N9, H9N2, H10N8;

不包括常见于蝙蝠中的毒株型别 H17N10, H18N11。

## ✔ 技术原理

通过特异性引物对流感病毒 RNA 进行逆转录,得到 cDNA 后通过通用兼并引物,在一管中扩增甲乙流全长基因组,可用于克隆、测序、定量等实验。

## ✔ 样本要求

新鲜样本 RNA 提取物  $\leq 18.5\mu\text{L}$  (推荐  $10\mu\text{L}$ ), 进行毒株型别鉴定要求 CT 值小于 32, 进行全基因组组装要求 CT 值小于 28, 样本提取后立即进行扩增。

## ✔ 为什么有些ct值很低的样本拿不到全长基因组, 反而有些高ct值的样本能拿到全长基因组

样本 CT 值与基因组的完整性无关。CT 值只反应样本核酸浓度的高低, 基因组完整性主要由样本降解情况决定。因此, 我们建议采用新鲜抽提的样本进行实验, 以确保得到全长基因组。

## ✔ 该试剂盒扩增产物用于二代测序

试剂盒主要适配 MGIEasy Fast PCR-Free 建库试剂盒进行文库制备, 文库制备后推荐使用 PE100+10+10 进行测序。

## ✔ 进行二代测序是否需要平衡文库

样本多重扩增后扩增子采用随机打断建库方案, 所以在后续过程中不需要混入平衡文库就可以进行测序。

## ☑ 试剂盒中内参和外参主要的作用

试剂盒中采用内参、外参和目标病毒模板进行共扩增,其中外参是恒定摩尔数的 lambda DNA 片段,可用于病毒的相对定量,内参用于核酸样本的质控。

## ☑ 该试剂盒是否适配三代测序(Nanopore)

该试剂盒扩增得到的产物可按照 Nanopore 建库流程进行三代文库制备,进行三代测序,详细建库操作可参照 Nanopore 扩增子建库流程。

## ☑ 实验操作是否需要分区

该试剂盒采用 PCR 的方法对病毒模板进行富集,得到的产物浓度较高,容易产生气溶胶污染,因此 PCR 的前区和后区需要进行严格分区。其中 RT-PCR 反应配置在前区,RT-PCR 反应以及后续的建库、测序步骤在后区。实验开始前后都需要对实验室进行核酸清除处理。

## ☑ MGISEQ测序仪推荐测序数据量

推荐每个样本 5M PE100reads。其中 MGISEQ-200 FCL 芯片推荐最多上机 96 个样本, MGISEQ-200 FCS 芯片推荐最多上机 16 个样本。

## ☑ 该试剂盒搭配什么软件进行分析

搭配 MGI FluTrack 软件进行数据分析,分析结果包括毒株分型、基因组组装和溯源。

## ☑ 如何拿到Fastq数据用于后续的深度分析

MGI FluTrack 软件分析后会生成一个去掉引物的 fastq 文件,可用于后续深度分析。

## ☑ 整个实验过程中有几个质检步骤

整个实验流程中有三个步骤需要质检,RT-PCR 的产物质控扩增是否正常 (>8ng/ul); 连接产物质控建库是否正常 (>0.75ng/ul); DNB 产物质控整个流程的文库是否正常 (>8ng/ul)。

版本: 2022年12月版 | MGPB0511001

**深圳华大智造科技股份有限公司**

深圳市盐田区北山工业区综合楼及11栋2楼

✉ [MGI-service@mgi-tech.com](mailto:MGI-service@mgi-tech.com)

🌐 [mgi-tech.com](http://mgi-tech.com)

☎ 4000-688-114

