

Celemics 靶向富集方案搭载DNBSEQ 测序平台赋能科研与临床研究

Celemics OncoRisk和WES Panel在MGISEQ-2000测序仪上的实测数据展示

本研究选取了Celeomics公司的OncoRisk和WES两个Panel以测试其NGS靶向富集解决方案是否可以适配华大智造MGISEQ-2000测序仪。综合研究表明：华大智造DNBSEQ测序平台可完美适配Celeomics产品，且性能表现与Brand A测序仪性能相当。

推荐应用：肿瘤组学，全外显子组测序(WES)

推荐机型：MGISEQ-2000RS, DNBSEQ-G99ARS, DNBSEQ-T7RS

- 捕获性能和变异检出能力优越

Celemics靶向富集panel覆盖度高,对变异位点检测灵敏度高。

- Celemics靶向富集方案可完美适配DNBSEQ测序平台

通用文库转换试剂盒可使该富集方案完美适配华大智造DNBSEQ测序平台。

- 数据产出高效且质量高

DNBSEQ测序技术具有高准确性,低重复序列率、低标签跳跃等重要特性。

- 可匹配自动化操作

华大智造可为全实验流程提供自动化解决方案,能够极大的节约人工成本并提高效率。



背景介绍

大规模平行测序（massively parallel sequencing, MPS）的发展使得科研和临床工作者在寻找肿瘤特异性标志物或探索其他新变异方面取得了长足的进步¹。MPS技术的广泛应用使得肿瘤筛查的成本更低，速度更快。与此同时，科研和临床工作者通过全基因组测序（WGS），全外显子测序（WES）以及靶向测序（TS）等技术在肿瘤研究领域取得了显著进展。MPS同样可应用于罕见体细胞变异、肿瘤亚克隆型和循环DNA碎片等的检测²。

Celemics为一家总部位于韩国首尔的，精诚为全球客户提供一站式高通量测序解决方案的服务商。基于独有的专利技术，Celemics已为其包括医院、临床实验室、研究机构和制药公司等在内的客户提供了超过一千种商业化或者定制化的探针panel。华大智造基于DNBSEQ技术推出的测序平台拥有高准确度和灵敏度、超低重复率、低标签跳跃率等优势。然而Celemics的靶向富集panel与华大智造DNBSEQ测序平台的兼容性尚未可知。

本研究选取了Celemics研发的两个商业化NGS panel：WES和OncoRisk panel进行测试，以评估Celemics靶向富集方案在DNBSEQ测序平台上的综合表现。Celemics的WES产品是最全面的WES产品之一，其覆盖区域大小为37 Mb，即使在“难以捕获”区域（如富含GC的区域）也能实现完美的捕获性能。Celemics OncoRisk Panel覆盖了从大量研究中精确挑选出来的31个与遗传性癌症相关的癌基因，具有超高的灵敏度和特异性，在癌症检测等特定场合之下，选取此Panel可避免WGS或WES的高成本问题。

材料与方法

样本获取

本研究使用NA12878, NA12891以及NA12892这三个DNA标准品进行试剂盒性能评估。

文库制备和测序

构建文库时，每个标准品投入200ng，利用Celeomics建库试剂盒制备相应的文库，此过程包括：打断，末端修复、接头连接和pre-PCR，随后利用Celeomics OncoRisk和WES panel进行杂交捕获，杂交和洗涤过程完成后，进行post-PCR，post-PCR产物纯化，所有文库都利用Agilent High Sensitivity D1000 ScreenTape System进行质控，最后上机至Brand A和**华大智造MGISEQ-2000**测序平台，采用双端150bp(PE150)的测序策略进行测序。其中，在MGISEQ-2000上测序的文库在测序之前需利用MGIEasy通用文库转换试剂盒（App-A）完成文库转换工作。每种样品文库一式两份，分别命名为L01和L02。如OncoRisk (L01)代表利用OncoRisk panel进行杂交捕获，此文库为重复1，其他名称依次类推。

数据分析

本研究利用MegaBOLT进行生信分析，MegaBOLT pipeline涵盖各类分析流程，如序列比对（调用BWA）、变异识别(调用GATK)、数据质控分析。其中序列比对过程参照人类参考基因组hg19，变异检测过程使用了RTG工具和标准NA12878 SNP和INDEL数据集。本研究中的部分结果也用到了Celeomics' pipeline进行分析。

结果

华大智造MGISEQ-2000的测序数据质量高

对基于NA12878, NA12891及NA12892这三种DNA标准品所得到的OncoRisk和WES文库的测序数据基础指标进行统计比较(此应用简报中只展示了NA12878标准品数据)，发现两平行文库(L01&L02)所得数据总量相差不大；对于Rate of clean reads，OncoRisk文库均略低于WES文库，但符合标准；对于Q30 (raw)以及Q30 (clean)，四个文库的值都较高，均达到了94%以上(表1)。

测序参数	OncoRisk (L01)	OncoRisk (L02)	WES (L01)	WES (L02)
raw reads	16,112,328	17951376	67818040	73274128
Raw data (Gb)	2.22	2.48	9.65	10.42
Rate of clean reads	91.57%	91.68%	94.46%	94.42%
Q30 (raw)	95.76%	95.96%	95%	94.97%
Q30 (clean)	95.69%	95.90%	95%	94.93%

表1. Celeomics OncoRisk和WES panel适配MGISEQ-2000的基础测序参数汇总

Celemics NGS Panel完美适配华大智造DNBSEQ测序平台

为了探究进一步评估Celeomics NGS panel是否适配MGISEQ-2000平台，研究者们对来自于MGISEQ-2000与Brand A的数据进行比较（此处只展示了NA12878样本得到的数据）。结果发现，OncoRisk panel适配MGISEQ-2000时得到的Duplication rate较低，为4.46%，Mapping rate, On-target ratio分别为99.93%，72.59%，说明OncoRisk panel有着较高的中靶率，并对目标基因有着较高的富集特异性，Coverage at least 100×为99.50%，说明此panel有着较为宽泛的靶标碱基覆盖率，Fold-80 base penalty为1.49，意味着此panel有着较好的覆盖均一性。对于Duplication rate, Mapping rate, On-target ratio以及Coverage at least 100×参数，MGISEQ-2000都与Brand A相当(图1A)，而对

于Fold-80 base penalty, MGISEQ-2000略优于Brand A(图1B)。

而当WES panel适配MGISEQ-2000时，得到的Duplication rate仅为1.56%，Mapping rate, On-target ratio分别为99.88%，71.59%，亦说明WES panel有着较高的中靶率，并对目标基因有着较高的富集特异性。Coverage at least 20×为91.66%，意味着有着较为宽泛的靶标碱基覆盖率(图1C)，Fold-80 base penalty为2.24（图1D）。对于Duplication rate, Mapping rate, On-target ratio以及Coverage at least 100×参数，MGISEQ-2000亦略优于Brand A。覆盖图再次证明了Celeomics WES panel具有较高的均一性（图2）。

以上结果说明，Celeomics NGS panel在华大智造测序仪平台上性能表现优异，MGISEQ-2000测序平台与Brand A测序平台性能相当。

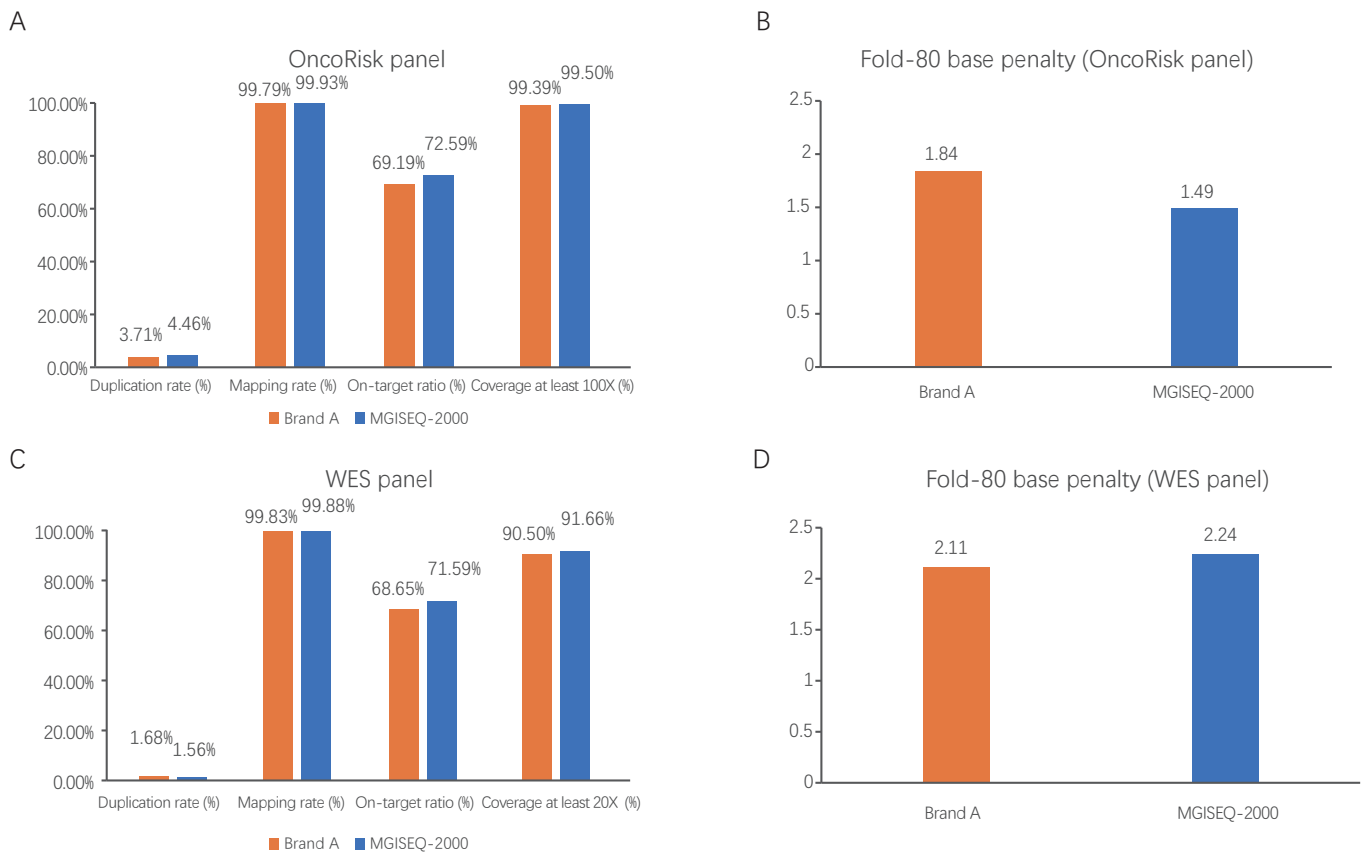


图1. Celeomics OncoRisk和WES panel适配MGISEQ-2000和Brand A的测序指标比较。

Celemics NGS panel对高GC区域也能较好地捕获

GC bias图显示了不同的GC含量基因区域的测序情况。对于NA12878 样本，OncoRisk (L01)/(L02)和WES (L01)/(L02)文库的GC bias图说明GC含量

较为平衡的区域(30-50%)能被很好地测序(~1)，GC含量较高的区域(60-80%)被过度地测序(~2)，GC含量较少的区域被较少测序(~0) (图3)。对于NA12891和NA12892样本，在OncoRisk和WES文库中观察到的结果与NA12878样本文库非常相似 (此处未展示)。

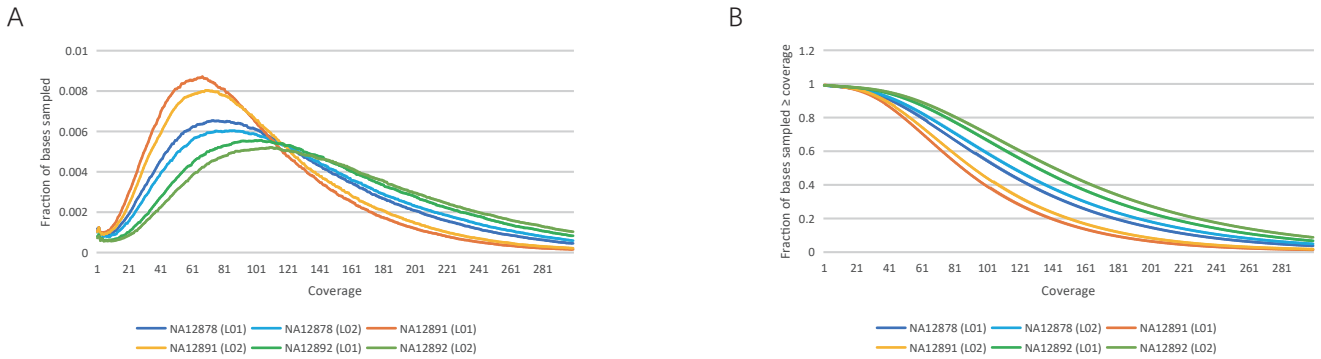


图2. WES文库在MGISEQ-2000上测序所得的覆盖度图。(A)利用不同种类标准品所获的文库覆盖度图相似。尖峰意味有较好的覆盖均一性，(B)每个样本的平均覆盖度约为100×且大部分区域的覆盖度大于30×。

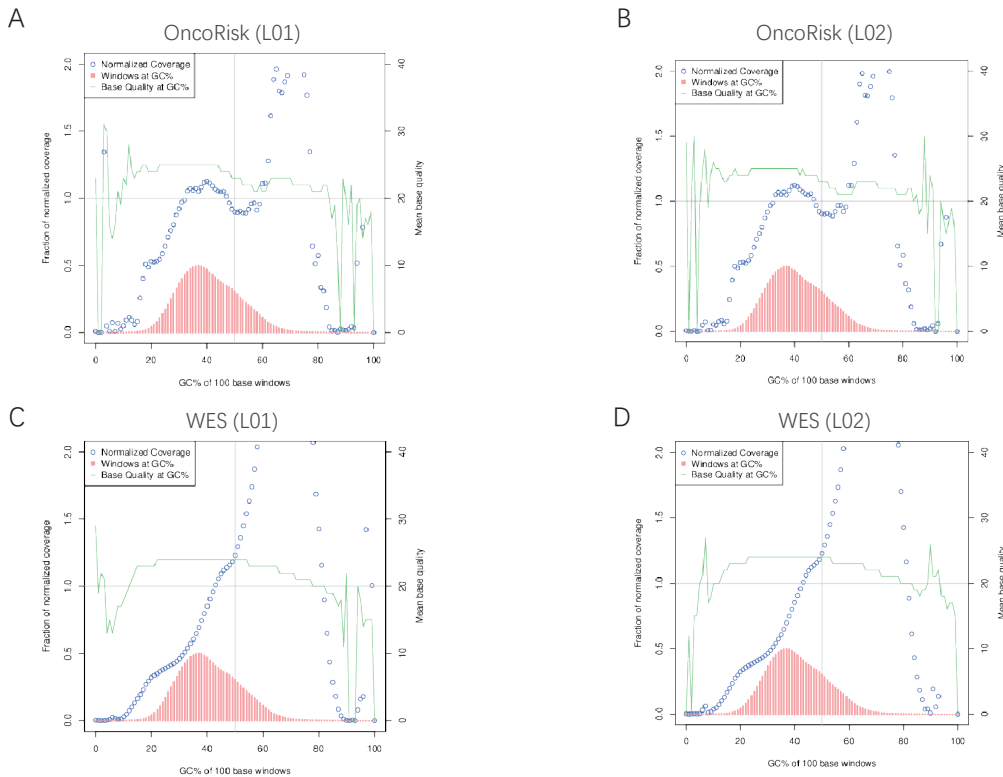


图3.对于NA12878样本，OncoRisk (L01)/(L02)和WES (L01)/(L02)文库上机MGISEQ-2000得到的GC-bias图。红色直方图代表着基因组GC含量分布，为参考序列在100bp bins中计算得到；通过为每个bin绘制归一化覆盖率来评估GC-bias (蓝色圆圈)，如果所有样本到数据的过程完全无偏，所有的bin都将会被同等地展示，即每个图将以标准覆盖率1为中心水平分布。

仅供研究使用，不适用于临床诊断

Celemics NGS Panel搭配DNBSEQ测序平台的变异检测灵敏度高

将检测到的变异与已知的NA12878标准变异进行对比来进行变异检测灵敏度评估。两个平台的变异信息使用软件“RTG Tools”进行分析，结果发现在OncoRisk文库中MGISEQ-2000和Brand A平台检测

到的变异数目一致，均为52个，变异检测灵敏度也一致，均为100%。此外，WES (L01)和WES (L02)中检测到的SNV总数分别为29,097和30,450。检测灵敏度分别为98.27%和98.42%，以上结果说明MGISEQ-2000与Celeomics NGS panel完美适配，且其性能与Brand A基因测序仪相当。

测序仪	文库名称	胚系变异数目	检测灵敏度
MGISEQ-2000	OncoRisk (L01)	52	100%
	OncoRisk (L02)	52	100%
Brand A	OncoRisk (L01)	52	100%
	OncoRisk (L02)	52	100%

表2. 由NA12878制备的OncoRisk文库在MGISEQ-2000和Brand A上测试得到的种系变异数目和检测灵敏度分析

测序仪	文库名称	SNVs数目	检测灵敏度
MGISEQ-2000	WES (L01)	29,097	98.27%
	WES(L02)	30,450	98.42%

表3. 由NA12878制备的WES文库在MGISEQ-2000上测试得到的SNV数目和检测灵敏度分析

总结

本研究选取Celemics的两款具有代表性的OncoRisk和WES Panel以评估该公司出品NGS panel与DNBSEQ平台测序仪的兼容性。实验中利用上述Panel及相关试剂盒完成文库构建，在MGISEQ-2000测序仪上完成测序工作并用Mega-BOLT pipeline完成生信数据分析，所获测试结果与Brand A测序仪所得结果进行综合比较。结果发现DNBSEQ平台与Celemics公司的OncoRisk和WES Panel完美适配，得到的测序数据质量较高，可重复性强，变异检测能力十分优越且与Brand A测序平台相当。

MGISEQ-2000采用全新的载片系统，能够灵活支持多种不同的测序模式，并采用优化设计的光学及生化系统，满负荷PE150(FCL)测序仅需约56小时。

Celemics公司NGS Panel搭配DNBSEQ平台，结果产出高效可靠，可全面赋能WES、肿瘤等领域的科研与临床研究。

参考文献

1. Serrati S, De Summa S, Pilato B, et al. Next-generation sequencing: advances and applications in cancer diagnosis. *Onco Targets Ther.* 2016;9:7355-7365. Published 2016 Dec 2. doi:10.2147/OTT.S99807
2. Guan YF, Li GR, Wang RJ, et al. Application of next-generation sequencing in clinical oncology to advance personalized treatment of cancer. *Chin J Cancer.* 2012;31(10):463-470. doi:10.5732/cjc.012.10216



基因测序仪MGISEQ-2000

推荐订购信息

产品类型	产品名称	产品货号
仪器	基因测序仪MGISEQ-2000RS	900-000035-00
	MGISP-100RS自动化样本制备系统	900-000070-00
	MGISP-960RS 自动化样本制备系统	900-000100-00
软件	MegaBOLT生信分析加速器（工作站式服务器）	970-000085-00
	WES Target Enrichment Kit(16 Hyb-RXN)	WEXL.HM.NS16*
建库试剂	WES Target Enrichment Kit (Pre-capture pooling)(16 Hyb-RXN)	WEXM.HM.NM16*
	OncoRisk Target Enrichment Kit(16 Hyb-RXN)	ONCS.HM.NS16*
	OncoRisk Target Enrichment Kit (Pre-capture pooling) (16 Hyb-RXN)	ONCM.HM.NM16*
	MGIEasy 通用文库转换试剂盒 (App-A) (16RXN)	1000004155
测序试剂	MGISEQ-2000RS 高通量快速测序试剂套装 (G400 App-A DB FCS PE150)	940-000222-00

*相关产品可登录Celemics官网<https://www.celemics.com/> 进行查阅订购。

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11栋

☎ 4000-688-114

🌐 www.mgi-tech.com

✉ MGI-service@mgi-tech.com

股票简称：华大智造

股票代码：688114



仅供研究使用

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。

版本：2024年4月版

撰稿：张含菲

责任编辑：王其伟

审稿：江遥