

# MGIEasy Fast PCR-FREE 酶切文库制备试剂套装V2.0

## ■ 产品描述

MGIEasy Fast PCR-FREE 酶切文库制备试剂套装V2.0是采用酶切打断-末端修复一步反应及快速纯化技术，可以高效、快速的将25 ng - 900 ng基因组DNA制备成 DNBSEQ™平台专用文库。本产品基因组覆盖均一性高，变异检测准确度和灵敏度表现优异，可适用于多种样本类型，包括血液、唾液、口腔拭子、病毒扩增子等，可以应用于高深度WGS、Low-pass WGS、微生物测序、扩增子测序等多种测序应用。

本产品提供多达384个barcode，可灵活支持8 - 384个样本文库pooling测序。在Low-pass WGS应用中，对于相同起始量、相同样本类型的文库，可支持多文库等体积pooling测序，无需pooling前繁复耗时的文库定量和均一化，简单易用，适用于大规模样本测序。

## ■ 产品亮点

### ✔ 快速的建库流程

将酶切打断、末端修复、加A步骤合并成一步完成，极大简化实验流程、缩短建库时间，减少手工操作，从gDNA到连接产物文库最快仅需1.3 h。

### ✔ 酶切打断兼容性好

高质量、低偏差的打断酶结合高效率连接体系，在不同物种、不同样本类型、不同常见DNA溶解buffer下，使用相同打断条件，均能获得片段大小一致的片段产物。

### ✔ 优异的性能

优化的反应体系，提高了文库质量，基因组覆盖均一性好，变异检测准确度和灵敏度表现优。

### ✔ 样本适用范围广

高效的建库效率、灵活的建库流程，可支持25 ng - 900 ng gDNA起始量，支持多样的样本类型，包括血液、唾液、口腔拭子、病毒扩增子等。

### ✔ 应用范围广

适用于多种DNA测序应用，包括大规模人高深度WGS、大规模Low-pass WGS、动植物WGS、微生物测序、扩增子测序等。

### ✔ 更高的建库通量

384个barcode，可支持8 - 384个样本pooling上机测序。

### ✔ 实现自动化建库

适配MGISP-100、MGISP-960、MGISP-Smart 8，提供高效灵活的自动化流程。

## 产品参数

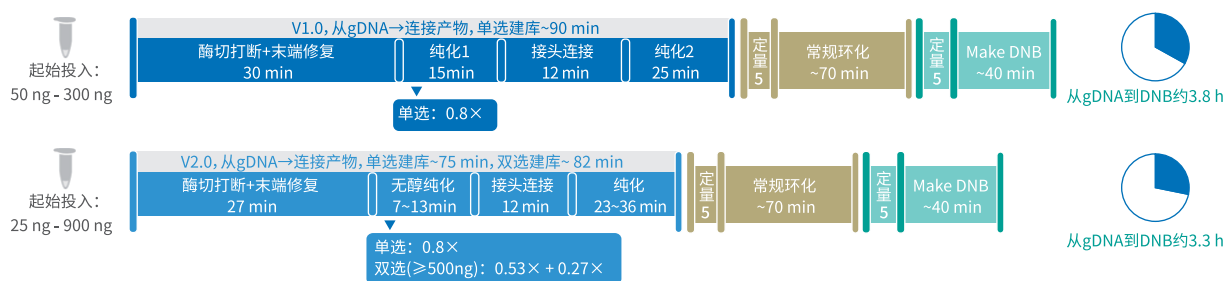
建库周期	~1.3 h - 1.4 h (从gDNA到连接产物文库)
手动操作时间	~20 min
所需样本量	25 ng - 900 ng gDNA
Barcode	~384 barcodes
样本类型	gDNA (来源于人血液、唾液、口腔拭子、组织、细胞等); 动植物组织、细胞等; 单菌株等)、宏基因组 DNA (来源于人粪便、口腔等)、扩增子DNA (病原长片段扩增子等)
物种类型	人、动物、植物、微生物
应用方向	人/动物/植物/微生物、全基因组重测序、宏基因组测序、Low-pass WGS、病毒长片段扩增子测序
推荐测序平台	DNBSEQ-E25、DNBSEQ-G99、MGISEQ-200、MGISEQ-2000、DNBSEQ-T7、DNBSEQ-T10×4、DNBSEQ-T20×2等
推荐测序读长	SE100、PE100、PE150等
适配自动化平台	MGISP-100 (16RXN)、MGISP-960 (96RXN、384RXN)、MGISP-Smart 8

## 产品性能

### 快速、灵活的建库流程

MGIEasy Fast PCR-FREE酶切文库制备试剂套装V2.0将酶切打断、末端修复+加A步骤合并成一步完成，极大简化实验流程、缩短建库时间，减少手工操作，是华大智造建库流程最快、操作最简单的DNA建库产品，建库从gDNA到连接产物最快仅需1.3 h；搭配华大智造OneStep DNB技术，从gDNA到DNB最快仅需2 h（图1）。

#### 常规环化法升级前后对比：



#### 一步法DNB升级前后对比：

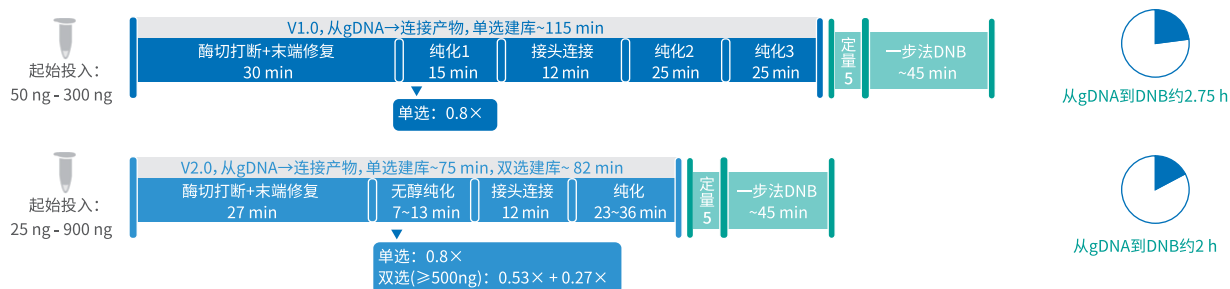


图1 不同PCR-FREE建库方法下从gDNA样本到DNB全流程

按一次1个样本计算从gDNA样本到DNB所需时间，MGIEasy Fast PCR-FREE酶切文库制备试剂套装V2.0可搭配两种不同的环化测序方法：

1) 常规环化：采用常规环化试剂盒（华大智造，货号:1000020570），对连接产物文库进行环化，得到单链环状DNA，再搭配常规make DNB，从gDNA样本到DNB需约3.3 h。常规make DNB采用MGI测序试剂套装中的make DNB试剂组分完成。

2) 一步法 DNB：采用一步法DNB V2.0（华大智造，货号: 940-000036-00\*），一步完成连接产物文库环化和make DNB，直接得到DNB，极大简化了从PCR文库到DNB的制备流程，缩短了上机前的准备时间。从gDNA样本到DNB，单样本全流程缩短至2 h。

### 性能优异，基因组覆盖度高，变异检测准确灵敏

以NA12878标准品为测试样本，采用不同试剂盒构建PCR-free文库并在不同平台进行PE150测序。结果显示，MGIEasy Fast PCR-FREE酶切文库制备试剂套装V2.0相对有更高的覆盖均一性，且变异检测准确度和灵敏度均表现良好。

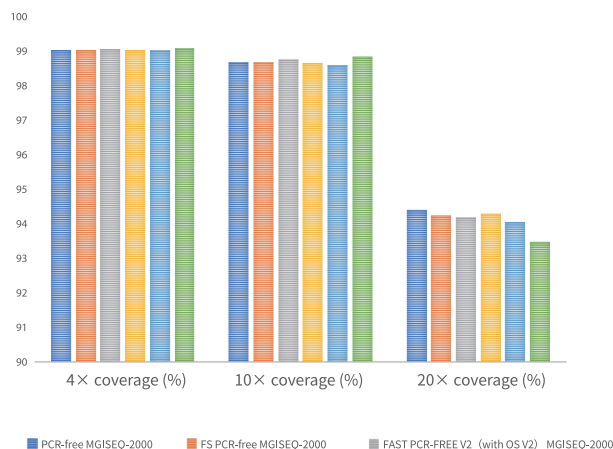


图2a 不同PCR-free建库试剂盒的基因组覆盖度

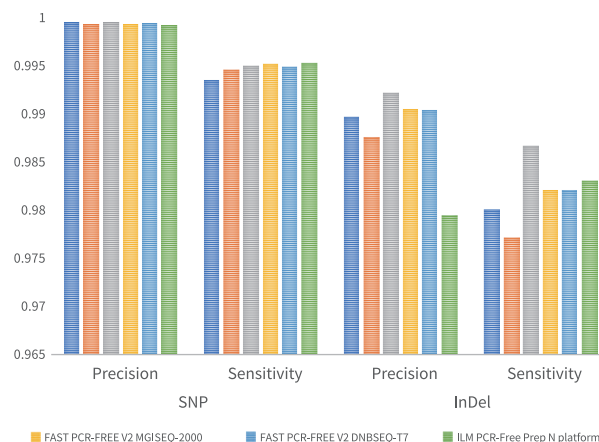


图2b 不同PCR-free建库试剂盒的变异检测

图2 不同PCR-free建库试剂盒构建文库的测序数据

建库：分别采用 MGIEasy PCR-Free DNA文库制备试剂套装（简写PCR-free），MGIEasy 酶切PCR-Free DNA文库制备试剂套装（简写FS PCR-free），MGIEasy Fast PCR-FREE 酶切文库制备试剂套V2.0搭配MGI OneStep DNB kit（简写 Fast PCR-FREE V2 with OS V2），MGIEasy Fast PCR-FREE 酶切文库制备试剂套V2.0搭配华大智造常规环化（简写 Fast PCR-FREE V2），其他PCR-Free建库产品（简写ILM PCR-Free）。

测序：华大智造文库采用MGISEQ-2000 PE150或DNBSEQ-T7 PE150测序，ILM PCR-Free文库在N平台PE150测序。

### 兼容多种常见的DNA溶解buffer

MGIEasy Fast PCR-FREE酶切文库制备试剂套装V2.0采用高质量的快速打断酶，可兼容多种样本类型、多种DNA溶解buffer。不同样本、不同buffer溶解的gDNA在相同的酶切打断反应条件下，均可以获得大小一致的片段主峰。

不同buffer溶解的NA12878 gDNA，在相同的建库条件下，采用MGIEasy Fast PCR-FREE酶切文库制备试剂套装V2.0搭配华大智造OneStep DNB（华大智造，货号：940-000036-00），DNBSEQ-T7平台PE100测序，可获得表现相当的高质量文库，变异检测准确度和灵敏度均表现良好（图3a、图3b、图3c）。

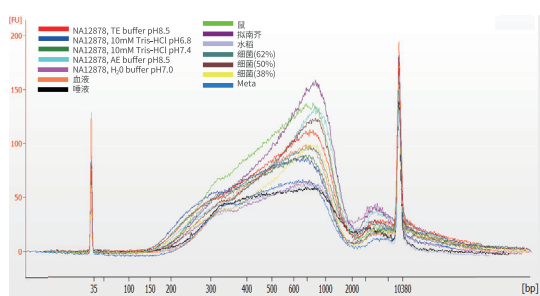


图3a 不同样本的酶切打断产物的2100示意图

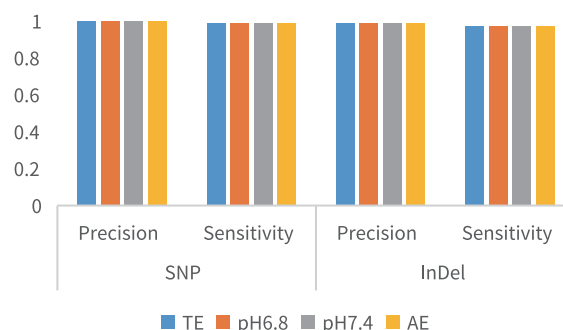


图3b 不同DNA溶解buffer下的变异检测

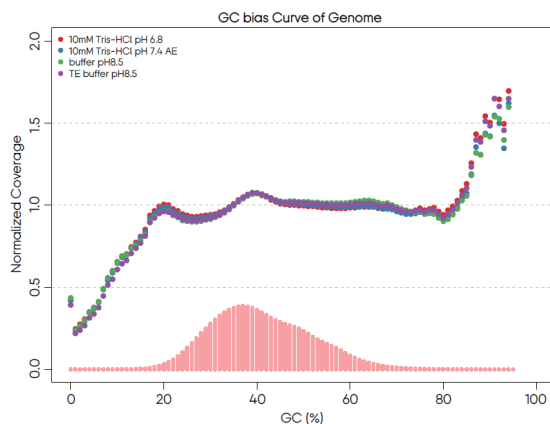


图3c 不同DNA溶解buffer下的基因组GC bias

图3 不同DNA溶解buffer下的表现

图3a:对溶解于TE buffer pH8.5、10mM Tris-HCl pH 6.8, 10mM Tris-HCl pH 7.4, AE buffer pH8.5、H<sub>2</sub>O的NA12878各取200 ng;

图3b、图3c:不同物种gDNA如人（血液、唾液）、小鼠、拟南芥、水稻、不同GC含量细菌、meta各取200 ng,采用MGIEasy Fast PCR-FREE酶切文库制备试剂套装V2.0建库。

### 适配low-pass, 支持多文库等体积pooling, 拆分均一性好

MGIEasy Fast PCR-FREE酶切文库制备试剂套装V2.0可适配low-pass应用, 支持多文库等体积pooling, 无需pooling前的繁复耗时的文库定量工作, 简单易用。384个barcode经过精心筛选测试, 进行连接文库等体积pooling时, 也能够获得较好的拆分率和拆分均一性。以NA12878、唾液、血液gDNA为样本在相同起始量下基于华大智造MGISP-960平台 (Lowpass脚本) 自动化建库, 文库进行等体积pooling, 搭配华大智造OneStep DNB (货号: 940-000036-00), 在DNBSEQ-T7平台PE100测序。测序拆分结果显示barcode拆分率>98%, 拆分均一性好。

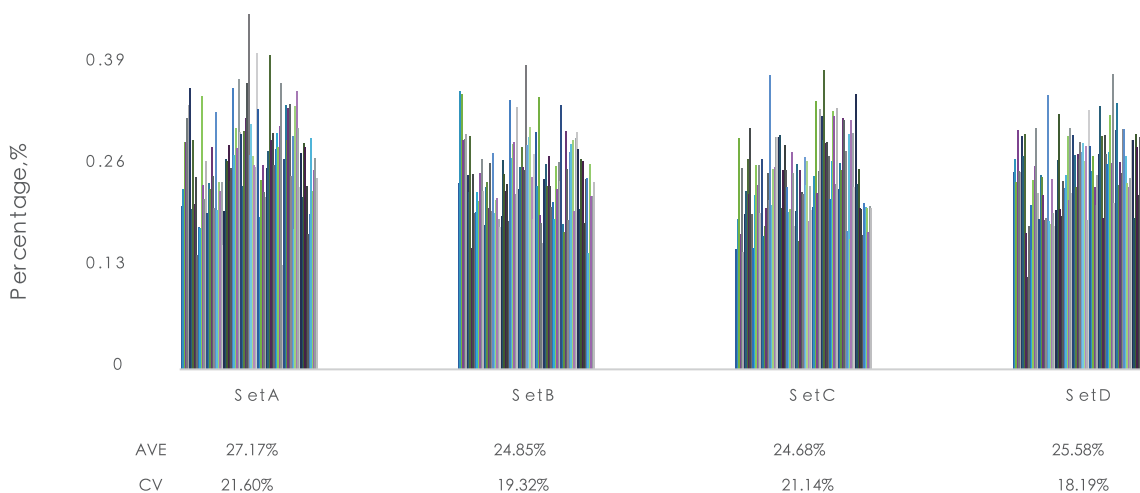


图4 连接文库等体积pooling测序数据的barcode拆分比例

## 适配扩增子测序,文库测序数据质量高

MGIEasy Fast PCR-FREE酶切文库制备试剂套装V2.0适用于病毒扩增子建库测序。以甲/乙流感病毒标准品为测试样本,采用MGIEasy呼吸道微生物基因组扩增试剂盒(华大智造,货号:940-000059-00)得到扩增产物,使用MGIEasy Fast PCR-FREE酶切文库制备试剂套装V2.0在MGISP-100上自动化建库,再搭配MGI OneStep DNB(华大智造,货号:1000026466),DNBSEQ-G99平台PE100测序,FLuTrack软件分析。结果显示,使用MGIEasy Fast PCR-FREE酶切文库制备试剂套装V2.0适配扩增子建库测序,制备的文库测序数据质量高,流感病毒8个基因组片段覆盖度良好,有助于病毒溯源和分型分析。

表1 DNBSEQ-G99下机数据

	数据产量Reads (M)	Q30 (%)	拆分率 (%)
下机结果	97.4	96.46	96.78

表2 甲/乙流感病毒8个片段的基因组覆盖度

样本	A-seg1	A-seg2	A-seg3	A-seg4_H1	A-seg5	A-seg6_N1	A-seg7	A-seg8
Amix-c500	99.19%	99.44%	99.82%	98.31%	98.98%	99.73%	98.34%	99.78%
A3-c1000	99.83%	99.83%	99.28%	99.61%	98.72%	98.43%	98.34%	96.97%
A3-c10000	99.83%	97.95%	99.42%	98.99%	99.30%	99.79%	98.25%	99.21%
A4-c1000	99.83%	99.15%	98.70%	98.31%	99.74%	99.11%	97.27%	97.87%
A4-c10000	99.19%	99.44%	100.00%	99.04%	99.30%	99.11%	99.61%	98.76%
A5-c500	99.83%	99.83%	99.42%	99.55%	98.72%	99.73%	99.61%	97.98%
A6-c500	99.83%	99.74%	99.28%	99.04%	99.30%	99.11%	98.25%	98.54%
NTC-1	/	/	/	/	/	/	/	/
B1-c500	100.00%	98.86%	99.87%	99.36%	100.00%	100.00%	100.00%	96.35%
B1-c1000	100.00%	98.99%	99.78%	96.49%	99.78%	96.60%	99.50%	96.35%
B1-c10000	99.46%	98.86%	99.44%	100.00%	100.00%	99.68%	99.58%	99.91%
B2-c500	100.00%	98.86%	100.00%	94.79%	100.00%	99.94%	100.00%	96.35%
B2-c1000	98.83%	98.90%	99.61%	96.17%	100.00%	100.00%	99.58%	96.35%
B2-c10000	99.83%	98.86%	99.48%	99.26%	99.51%	99.29%	100.00%	96.35%
B3-c500	99.46%	98.82%	99.26%	95.32%	100.00%	100.00%	100.00%	94.99%
NTC-2	/	/	/	/	/	/	/	/
平均值*	99.65%	99.11%	99.53%	98.16%	99.53%	99.32%	99.17%	97.55%

A为甲型流感病毒,B为乙型流感病毒,c500、c1000、c10000分别表示500拷贝数、1000拷贝数、10000拷贝数;NTC为阴性对照;平均值不含阴性对照。

## ■ 总结

MGIEasy Fast PCR-Free酶切文库制备试剂套装V2.0建库流程快速、灵活，搭配一步法DNB可实现从gDNA到DNB最快仅需2 h。文库的基因组覆盖度高，覆盖均一性好，变异检测准确灵敏，建库效率高，可兼容多种不同溶解buffer、不同物种的25 ng - 900 ng gDNA起始量，适用于临床全基因组测序、大人群及动植物全基因组测序（高中低深度均可）、病原微生物全基因组测序、宏基因组测序、基因编辑基因组测序等多种应用场景。

## 订购信息

产品名称	规格	货号
MGIEasy Fast PCR-FREE酶切文库制备试剂套装 V2.0	16 RXN	940-000886-00
	96 RXN	940-000884-00
	384 RXN	940-000882-00
MGIEasy 双Barcode环化试剂盒	16 RXN	1000020570
DNBSEQ 一步法DNB制备试剂盒V2 (OS-DB)	4 RXN	940-000036-00
DNBSEQ 一步法 DNB 制备试剂盒 (OS-DB) *	4 RXN	1000026466

\*此款试剂盒适用于DNBSEQ-G99RS (PE100/SE100)及MGISEQ-200RS (PE100/SE100)。



股票简称：华大智造  
股票代码：688114

深圳华大智造科技股份有限公司

✉ MGI-service@mgi-tech.com

🌐 www.mgi-tech.com

☎ 4000-688-114



官方微信



官方中文网站

版权声明：本手册版权属于深圳华大智造科技有限公司所有,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有限公司及其提供者所有。

版本号：2024年7月