

基于MGISEQ-200RS平台的SARS-CoV-2快速识别

——采用ATOPlex新冠全基因组扩增panel V3.0

方法特点

识别迅速、信息全面

全流程最快可 17.2h* 完成，结果覆盖 SARS-CoV-2 全基因组比对、变异信息、毒株分型等内容。

高灵敏度

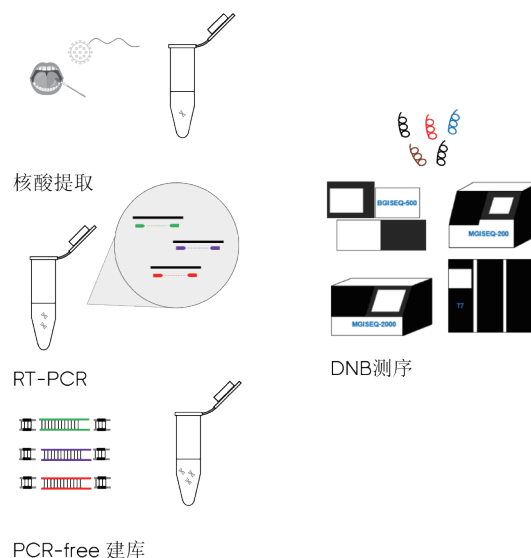
产品满足咽拭子、肺泡灌洗液等多种检测样品，最低可从 10 个拷贝病毒 ** 中获取病毒全基因组数据。

多场景拓展

灵活便携的测序策略，支持多种应用场景。

* 为单样本手工制备 RNA 文库，搭载 MGISEQ-200RS (小载片) 时所测得的全流程时长。

**10 个拷贝为标准品



产品概述

SARS-CoV-2 快速识别产品组合以华大智造自主研发的提取、建库试剂、桌面小型高通量测序平台以及数据处理系统为基础，可实现实验与数据处理的全流程自动化，最快 17.2h 即可完成从样本的核酸提取到结果的输出。本产品为 SARS-CoV-2 的识别，全基因组序列的比对以及分型信息提供全面、可靠、极速的技术保障。

对样本进行采集后，可利用 ATOPlex RNA 多重 PCR 建库试剂盒套装 V3.0 (940-000132-00/940-000133-00) 进行富集，并建库，通过测序能够获得样本中 SARS-CoV-2 相关基因序列信息，为疑似样本的确诊和分型提供参考依据。

MGISEQ-200RS 是一款小巧、灵活的桌面型单载片基因测序平台，支持高低两种通量的载片。小载片 (FCS) 运行速度快，大载片 (FCL) 通量高，您可根据实际需求灵活选择载片大小从而在合理时间内顺利产出充足的测序数据。

本文将为您带来基于 MGISEQ-200RS 平台的 SARS-CoV-2 快速识别产品的实验数据简要解读。

表1 基于MGISEQ-200RS的推荐样本通量

用途	读长	数据产量	推荐样本通量/Run	测序耗时
SARS-CoV-2检测	SE100+10+10	1-10M Reads/Sample	10-96	~ 10 h

■ 方法

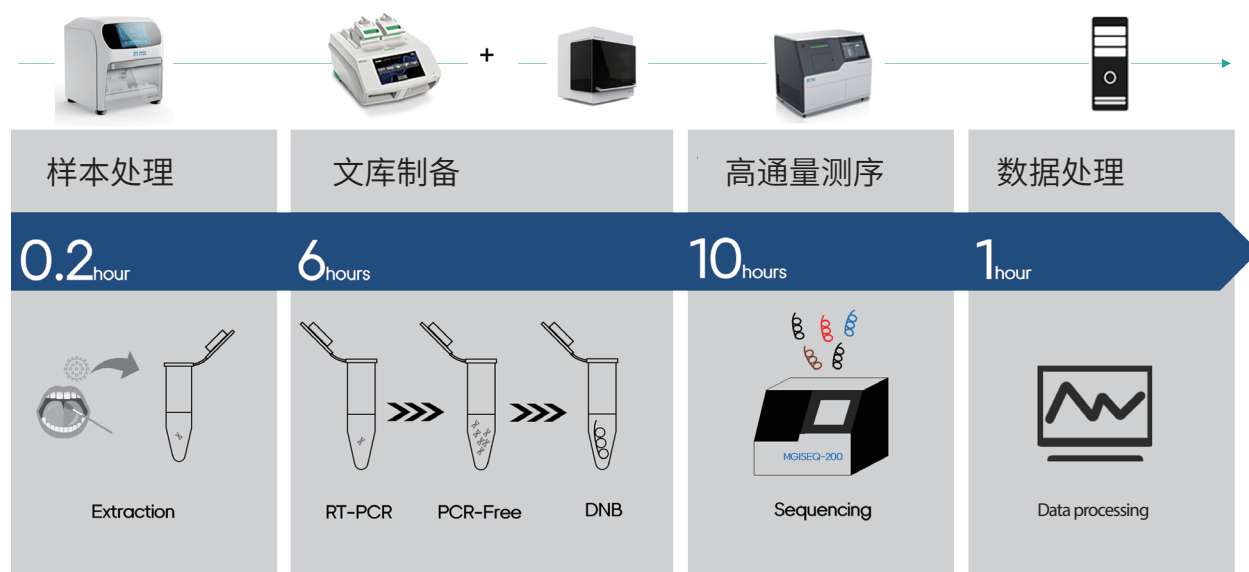


图1 整体实验流程

样本准备

采用菁良病毒 RNA 标准品, 稀释 5 个梯度, 并设置阴性对照。

建库

利用华大智造自主研发的 ATOplex RNA 多重 PCR 建库试剂盒套装 V3.0 (940-000132-00/940-000133-00) 对样品 RNA 进行扩增和建库, 并使用 DNBSEQ 一步法 DNB 制备试剂盒 (1000026466) 完成 DNB 的制备。

测序

使用基因测序仪 MGISEQ-200RS (MGI, 900-000350-00) 进行 SE100+10+10 测序。MGISEQ-200RS 是一款小巧、便携、快速的桌面型基因测序平台, 并包含大小两种载片, 您可根据实际需求灵活选择配置, 上机测序操作全过程精简流畅, 极大提高测序效率, 大大缩短测序时间。

数据处理

测序下机数据采用配置于微生物快速识别平台 MGI metargetCOVID 软件 (970-000228-00) 进行生信数据处理并输出结果。MGI metargetCOVID 软件是一款自动数据处理流程, 其中包括了数据质控、SNP 识别及注释、毒株分型等模块, 更快更全面获取目标样本信息。

■ 结果

数据结果

使用 SARS-CoV-2 快速识别组合产品所包含的提取、建库试剂对采集的咽拭子或肺泡灌洗液样本进行提取并完成文库构建，为保证样品制备质量，设 3 个质检点，分别为：PCR 产物质检 $>5\text{ng}/\mu\text{L}$ ，连接产物质检 $>0.75\text{ ng}/\mu\text{L}$ ，DNB 质检 $>8\text{ng}/\mu\text{L}$ 。检测数据结果详见表 2、表 3。

表2 扩增、建库、DNB浓度

样品	建库浓度(ng/ul)	连接产物浓度(ng/ul)	DNB浓度(ng/ul)
标准品01	112.6	1.87	27.1
标准品02	95.3	2.12	
标准品03	52.4	3.08	
标准品04	17.1	3.28	
标准品05	17.2	1.96	
阴性	11.5	2.18	

表3 MGISEQ-200RS FCS SE100测序结果

类型	CT值	拷贝数	数据量 (reads) *	SARS- CoV-2(%)	鉴定结果	1X Coverage(%)	100X Coverage(%)	Average depth
标准品01	25.4	10000	7,699,982	98.60%	阳性	99.87	99.87	24159
标准品02	28.7	1000	12,419,695	93.00%	阳性	99.87	99.87	35046
标准品03	32.0	100	7,398,771	71.80%	阳性	99.87	99.87	12068
标准品04	35.3	10	9,323,399	28.10%	阳性	99.08	91.85	2145
标准品05	38.6	1	7,770,662	2.30%	阳性	36.57	20.62	254
阴性	NOCT	0	6,133,458	0.07%	阴性	16.12	0.11	0

*每个样本数据量

结果示例

质控结果：利用“MGI metargetCOVID”专业分析软件对 MGISEQ-200RS 的下机数据进行质控、过滤，在配套计算模块中完成对 SE100+10+10 测序数据的处理及统计，测序数据 Q30 > 87%，表现出极高的测序质量详细数据见表 4。

表4 MGISEQ-200RS FCS SE100测序质量

测序数据指标	原始 read1	过滤后 read1
Q20 number	478,637,982 (95.73%)	355,895,553 (98.16%)
Q30 number	435,698,886 (87.14%)	322,106,266 (87.03%)

比对统计：本项目采用 Wuhan-Hu-1 (MN908947.3，complete genome)作为新冠病毒参考基因组进行比对。在获得质控合格的 reads 后，将 reads 与参考基因组进行比对。比对过程会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。下表展示了质控合格 reads 与参考基因组比对后的相关统计信息。

表5 测序基本信息

参考基因组长度	新冠病毒reads数目	GAPDH reads 数目	SPIKE-IN CONTROL reads数目	新冠病毒reads占比(%)
29903 bp	3502765	31618	1489	99.96

鉴定结果	新冠浓度(copies/ml)
Positive	7325959.90

平均深度	中位数深度	覆盖率	4x覆盖(%)	10x覆盖(%)	30x覆盖(%)	100x覆盖(%)
9846.34	7137.0	100.00	99.91	99.90	99.90	99.90

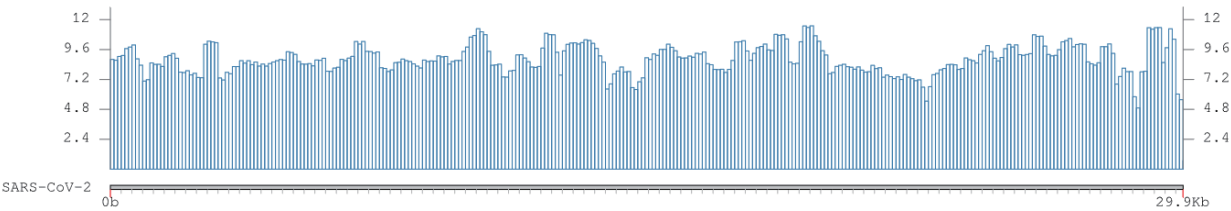


图2 测序深度覆盖图

变异检测与注释：因为实验中使用的新型冠状病毒 RNA 标准品是依据 Wuhan-Hu-1 (MN908947.3, complete genome) 进行序列合成的,所以本测试中并未检测出任何 SNP 与 Indel 变异。

毒株分型：本项目把基于比对获得的新冠病毒一致性序列，通过比对算法分配到已完成株型区分的新冠病毒进化树上，根据其所在的进化枝,分配一致性序列的进化枝 ID 信息,相关统计信息见表 6 及图 3。

表6 毒株分型

比对序列大小	N碱基数目	SNPs数目	INSs数目	DELs数目	进化枝编号	谱系编号
29903	0	0	0	0	19A	B

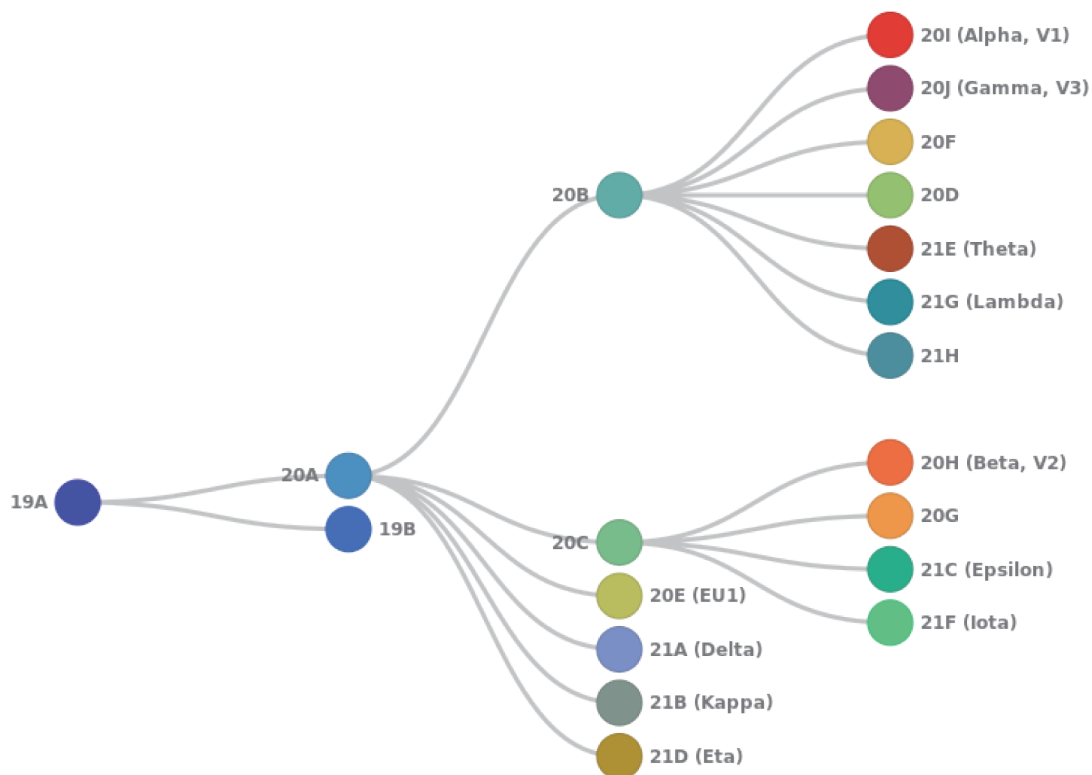


图3 新冠病毒谱关系图

■ 总结

对 SARS-CoV-2 疑似样本进行极速识别,可获得样本中病毒基因组比对、变异、毒株分型信息,为疑似样本的确诊提供参考依据。基于华大智造自主研发的提取试剂、MGISEQ-200RS 高通量测序平台,搭载自主开发的 ATOPlax RNA 多重 PCR 建库试剂盒套装、DNBSEQ 一步法 DNB 制备试剂盒 (OS-DB) 和 MGI metargetCOVID 软件能够更快速获得病毒信息,实现病毒的鉴定、变异监测和分型。

订购信息

产品名称	规格	货号
测序仪		
基因测序仪MGISEQ-200RS	配置2	900-000350-00
MGISP-NE32全自动核酸提取纯化仪	台, NMPA	950-000012-00
样本处理试剂		
MGIEasy 核酸提取试剂	VDR03P-32	1000023938
文库制备试剂		
ATOPlax RNA多重PCR建库试剂盒套装V3.0	16 RXN	940-000132-00
ATOPlax RNA 多重PCR建库试剂盒套装V3.0	96 RXN	940-000133-00
测序试剂		
DNBSEQ一步法DNB制备试剂盒 (小包装-OS-DB)	/	1000026466
CPAS条形码引物试剂盒4 (SE测序)	/	1000014048
MGISEQ-200RS高通量快速测序试剂套装 (FCS SE100)	/	1000019845
数据处理系统		
MGI metargetCOVID软件	/	970-000228-00
微生物快速识别平台	/	900-000392-00

■ 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: 4000-966-988
版本: 2021年9月版 | MGP051810102-06



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



https://twitter.com/MGI_BGI



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。