

纳昂达靶向富集方案搭载华大智造自动化系统及DNBSEQ平台赋能肿瘤相关变异检测及WES研究

纳昂达LungCancer Panel及NEXome Core Panel适配MGISP-Smart 8和MGISEQ-2000的实测数据展示

本研究选取了纳昂达公司的肺癌和WES两类Panel以测试其靶向富集建库方案与华大智造自动化系统、DNBSEQ测序平台的兼容性。相关结果分析表明：华大智造自动化系统以及DNBSEQ测序平台可完美适配纳昂达靶向富集方案，建库与测序质量高，且与手工结果相当，对相关变异鉴定准确。综合研究表明：华大智造DNBSEQ测序平台可完美适配纳昂达靶向富集方案产品。

推荐应用：肿瘤组学(肺癌)以及全外显子组测序(WES)

推荐机型：MGISP-Smart 8RS, MGISP-100RS, MGISP-960RS（自动化平台）

DNBSEQ-G99ARS, MGISEQ-2000RS, DNBSEQ-T7RS（测序平台）

• 纳昂达试剂盒性能表现稳定、出色

纳昂达LungCancer Panel和NEXome Core Panel均具有高效的靶区捕获性能，可分别应用于肺癌相关基因变异检测和WES研究。

• 自动化系统可高度适配样本处理与建库全流程

华大智造自主研发的MGISP-Smart 8自动化系统可灵活实现1~48样本/轮的任意建库通量，还可准确、稳定、高效地完成从文库制备、杂交捕获、均一化、Pooling至DNB制备的全流程工作，并保证文库样本的均一性和准确性。

• 可完美适配DNBSEQ平台

纳昂达靶向富集方案可与华大智造DNBSEQ测序平台完美适配。

• 测序数据产出高效且质量高

DNBSEQ测序技术具有高准确性，低重复序列率以及低标签跳跃等重要特性。



背景介绍

大规模平行测序(massively parallel sequencing, MPS)技术能够同时对数百万或数十亿个DNA分子进行测序，可有效降低测序成本，提高测序精度及检测速度，现已广泛应用于疾病初步诊断、癌症监测和耐药机等研究^{1,2}。然而繁琐的手工操作、高技能的人员要求是MPS文库制备过程中的主要挑战³，自动化设备可有效解决相关问题⁴。

华大智造自主研发了MGISP自动化系统以解决客户痛点。该系统涵盖样本前处理、样本制备及通用检测系统等三大系列产品。其中，MGISP-Smart 8是一款专业级的实验室自动化样本制备系统，其搭载8个独立可控的移液通道，不仅可以灵活实现1-48样本/轮的建库通量，还覆盖从样本分装、核酸提取、文库构建、pooling至DNB制备全流程的自动化操作。同时，它还可与酶标仪整合，实现定量移液全自动，极大程度降低实验人员的手工操作时间。

纳昂达公司是一家致力于为全球客户提供专业化和高质量的靶向富集建库产品与闭环解决方案的服务商。该公司基于其独有的专利技术，开发出了多种适配于华大智造DNBSEQ测序平台的靶向富集方案产品。DNBSEQ测序平台以高准确度和灵敏度、超低重复率、低标签跳跃率等优势越来越受到全球客户的广泛青睐。

本研究测试了纳昂达的LungCancer Panel及NEXome Core Panel两款靶向捕获试剂盒以评估纳昂达靶向富集方案与华大智造MGISP系统、DNBSEQ测序平台的兼容性。

LungCancer Panel是一款针对肺癌分析的特色panel，其靶向区域为精选的肺癌相关基因，涵盖NCCN指南中明确与非小细胞肺癌治疗相关的基因。该panel覆盖基因组约218 kb区域，可检测包括碱基替换，插入/缺失，基因重排，扩增在内的多种变异类型。NEXome Core Panel包含约40万条单独合成、单独质控的单链DNA探针，靶向34.7 Mb基因组区域(19,613基因)。该产品作为一款核心全外显子Panel，可与不同的子panel组合搭配，满足不同应用需求。

纳昂达靶向富集方案搭配MGISP自动化系统可完成高质量的文库制备，搭载DNBSEQ测序平台发现此靶向富集方案具有高中靶率，目标基因高富集特异性、高覆盖均一性，GC偏好性低以及相关变异鉴定准确等特点。研究表明纳昂达靶向富集方案可完美适配华大智造MGISP自动化系统和DNBSEQ测序平台。

材料和方法

样本制备

本研究选取 菁良泛肿瘤 gDNA 标准品 (PN: GW-OGTM800) 开展实验。

文库制备与测序

在文库制备阶段，每个样本投入50ng，使用NadPrep® EZ DNA Library Preparation Module v2 以及NadPrep® Universal Adapter (MDI)Module Set B1完成杂交前的文库制备过程，酶切时长为23min，Pre-PCR的循环数为7。随后利用LungCancer Panel或NEXome Core Panel进行杂交。对于1-plex的样本，每个样本投入500 ng，投入总质量为500 ng，Post-PCR的循环数为11，杂交时长为16 h。对于用于4-plex的样本，每个样本投入500 ng，投入总质量为2 µg，Post-PCR的循环数为9，杂交时长为16 h，以上过程均在MGISP-Smart 8 上进行。本研究中LungCancer Panel均采用1-plex的杂交策略，NEXome Core Panel采用1-plex或

4-plex的杂交策略。此外，本次测试还平行进行了手工建库以评估自动化建库方案的可行性。手工建库和自动化建库实验操作均可参考相关说明书。

所获双链DNA文库产物通过RCA (Rolling circle amplification)反应制备成DNB，随后均在MGISEQ-2000 测序仪上完成双端150bp(PE150)测序。

生信分析

针对LungCancer Panel以及NEXome Core Panel 分别截取0.2G、10G的下机数据进行分析。生信分析流程如下:1. 使用fastp软件进行测序reads质量评估，切除接头并过滤低质量数据；2. 随后将过滤后的reads同参考基因组进行BWA比对，得到比对bam文件；3. 对bam文件进行统计，统计内容有比对率，探针GC偏好性分析，中靶情况分析等基础质控指标；4. 使用Vardict进行捕获数据变异分析并分别统计实测变异频率和理论值的一致性。

样本准备	杂交前文库制备 (~4 h)	杂交捕获 (~20-21.5 h)	测序 (~12-50 h)	数据分析
菁良泛肿瘤 gDNA标准品	 NadPrep® 快速 DNA 酶切 文库构建试剂盒 v2	 NEXome Core Panel 或 LungCancer Panel	 DNBSEQ-G99 (PE150, ~12h) 或  MGISEQ-2000 PE150 (FCS), ~31h PE150 (FCL), ~50h	纳昂达生信分析流程
	 MGISP-Smart 8 文库质控: ~0.5 h		文库质控: ~0.5 h DNB质控: ~20 min	

*以上质控过程均为手工操作
*本套方案可以处理1~24样本/run
*新升级的MGISP-Smart 8 可与酶标仪整合，自动化完成 PCR 文库、DNB 样本及提取产物的定量移液步骤，建库全流程自动

结果

华大智造MGISP自动化系统可制备高质量文库

本研究中，全程利用纳昂达靶向富集建库产品在MGISP-Smart 8自动化系统上完成文库制备工作。在相同50 ng的投入量下，利用LungCancer Panel或NEXome Core Panel搭配MGISP-Smart 8所得的Pre-PCR产物产量均值>1800 ng，满足>1000 ng的实验要求(图1A, B)；后续杂交捕获后得到的post-PCR产物产量亦满足实验需求(图1A, B)，且

自动化建库方案各质检环节的文库产量均略高于手工建库。同时，所获得的文库片段大小也与预期相符(~ 400 bp)，无引物二聚体等非特异性峰，文库质量较高(图1C, D)。

以上结果表明华大智造MGISP-Smart8自动化系统搭配纳昂达LungCancer Panel和NEXome Core Panel可完成高质量文库制备，且NEXome Core Panel无论采用1-plex还是4-plex的杂交策略均能获得较好的结果(NEXome Core Panel 1~12plex皆为官方推荐杂交范围)。

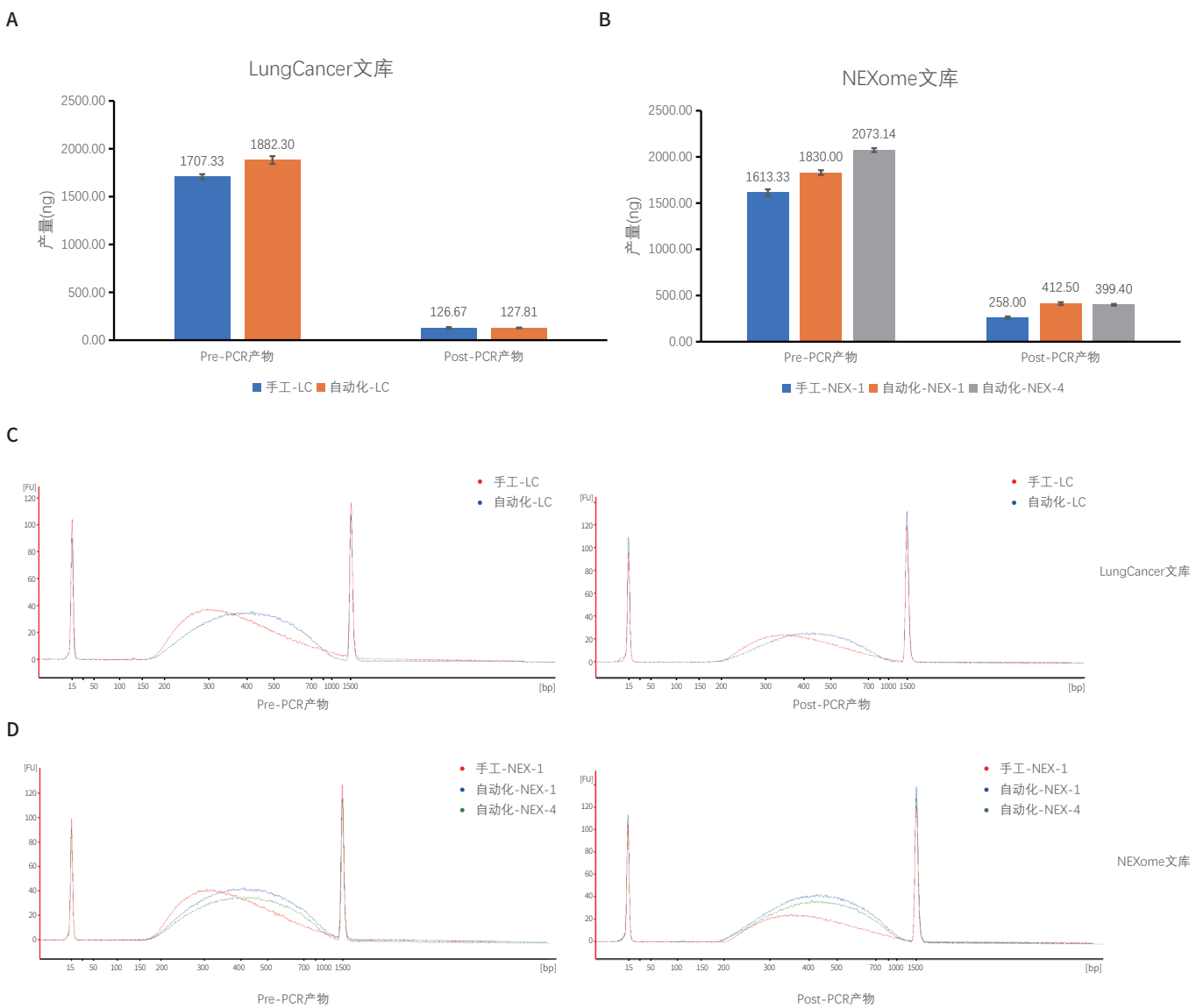


图1. 纳昂达靶向富集产品可搭配MGISP-Smart 8完成高质量的文库制备。(A,B)各质检位点文库产量分析；(C, D)各质检位点片段大小分析。手工-LC代表利用LungCancer Panel手工建库所得文库，手工-NEX-1/4表示利用NEXome Core Panel，采用1-plex或4-plex杂交方案建库所得文库，其他名称依次类推。

仅供研究使用，不适用于临床诊断

纳昂达靶向富集方案完美适配DNBSEQ测序平台

自动化-LC的Q30，Mapping rate和Target rate分别为94.62%，99.58%和90.10%；说明LungCancer Panel有着较高的中靶率，对目标基因有着较高的富集特异性；% target > 0.2 × mean、% target > 0.5 × mean分别为99.95%以及95.74%，说明此panel

有着较高的靶区覆盖率(图2A)。Fold-80 Base Penalty为1.36，说明此panel有着较为出色的靶区覆盖均一性(图2B)，并且当截取数据量为0.2G时，自动化-LC的平均测序深度达692.23 × (图2C)。

以上测序结果均与手工结果相当，说明LungCancer Panel十分适配华大智造MGISP自动化系统和DNBSEQ测序平台。

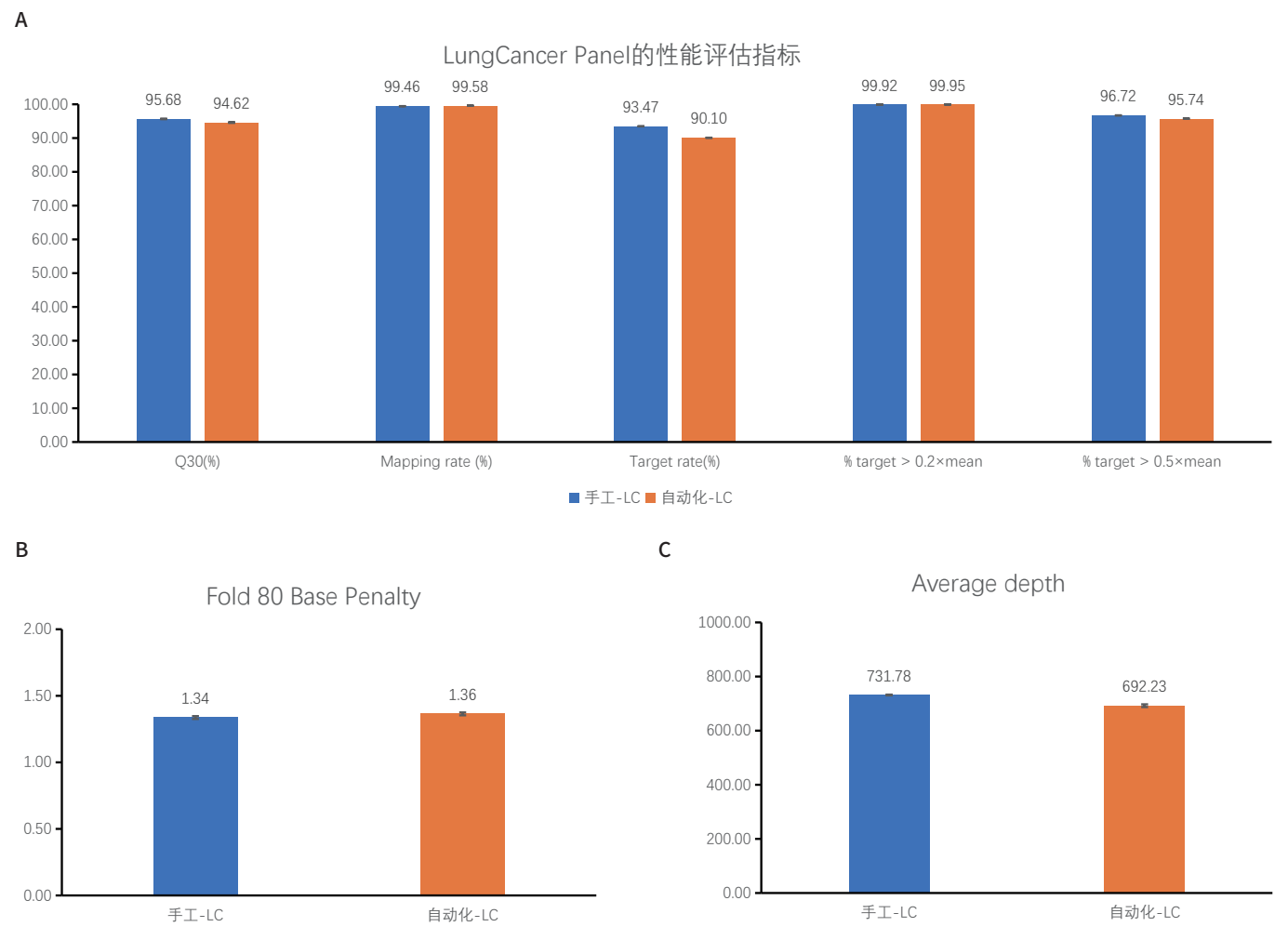


图2. LungCancer Panel适配MGISEQ-2000的关键测序参数展示。(A)Mapping rate：比对到参考基因组的reads比例, Target rate: 目标基因的中靶率,% target > 0.2 × /0.5 × mean: 大于0.2 × /0.5 × 平均测序深度时的靶区域覆盖度。(B)Fold-80 Base Penalty: 覆盖均一性(此值越接近1越好)。(C) Average depth：平均测序深度。

自动化-NEX-1和自动化-NEX-4的Q30均高于90%，Duplication rate均低于5%，Mapping rate高达99%以上，Target rate均大于90%，% target > 0.2×mean均达到99%以上，% target > 0.5×mean亦在99%左右。

以上结果均说明NEXome Core Panel亦完美适配MGISP-Smart 8以及MGISEQ-2000，不论是1plex还是4plex的杂交方式均能获得较为理想的测序结果，且以上测序结果均与手工建库结果相当。

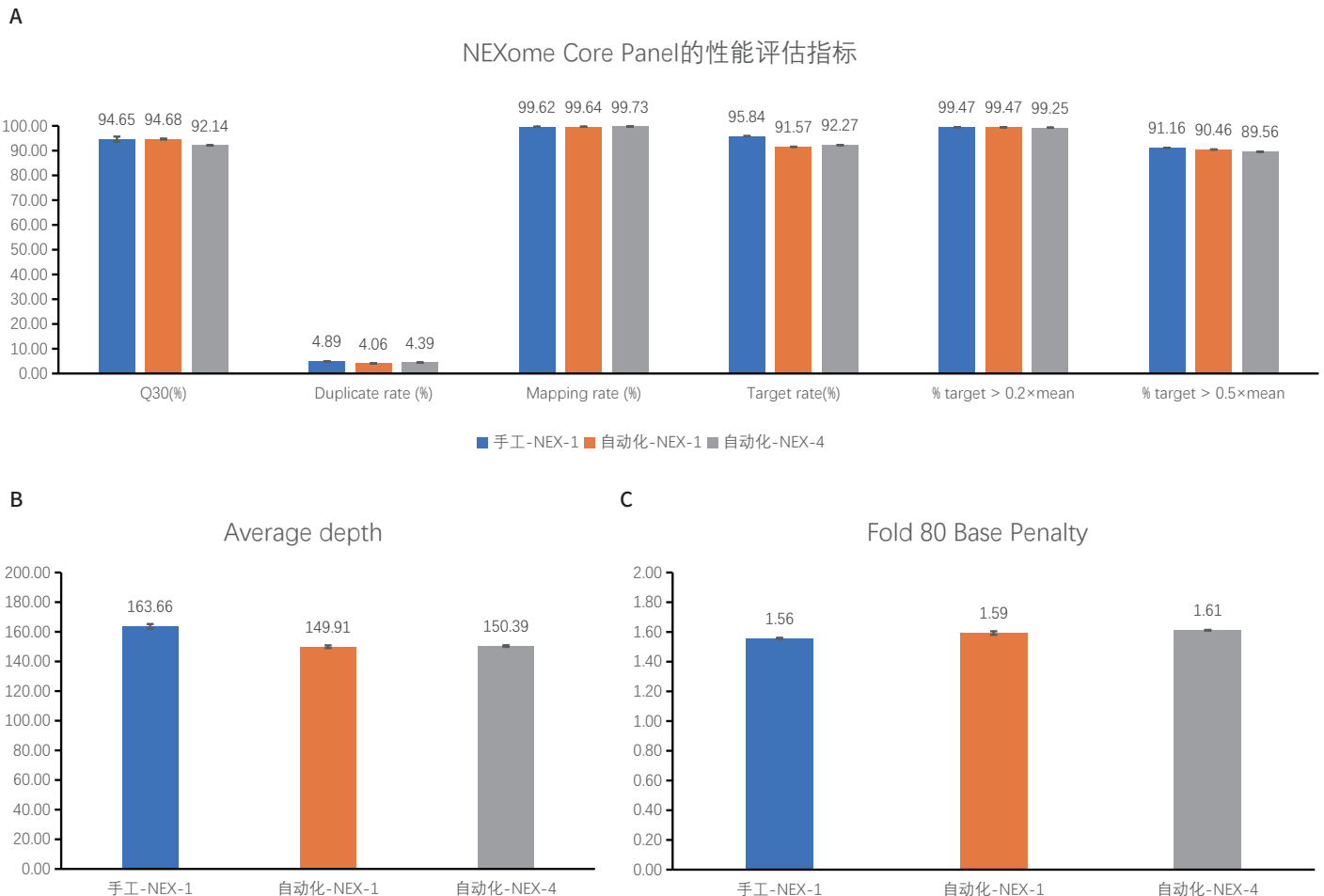


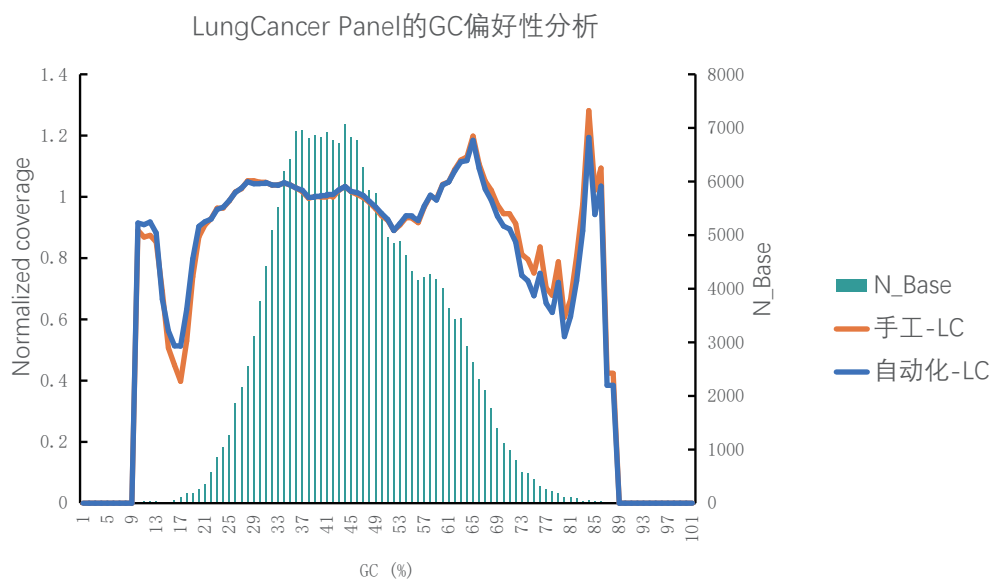
图3. NEXome Core Panel适配MGISEQ-2000的关键测序参数。

纳昂达靶向捕获panel的GC偏好性分析

对LungCancer Panel以及NEXome Core Panel进行GC偏好性分析发现：自动化建库方案下，

LungCancer Panel对GC含量较高的区域也能较好地捕获，NEXome Core Panel在不同GC含量下的覆盖度良好，且结果亦与手工建库方案相当(图4 A, B)。

A



B

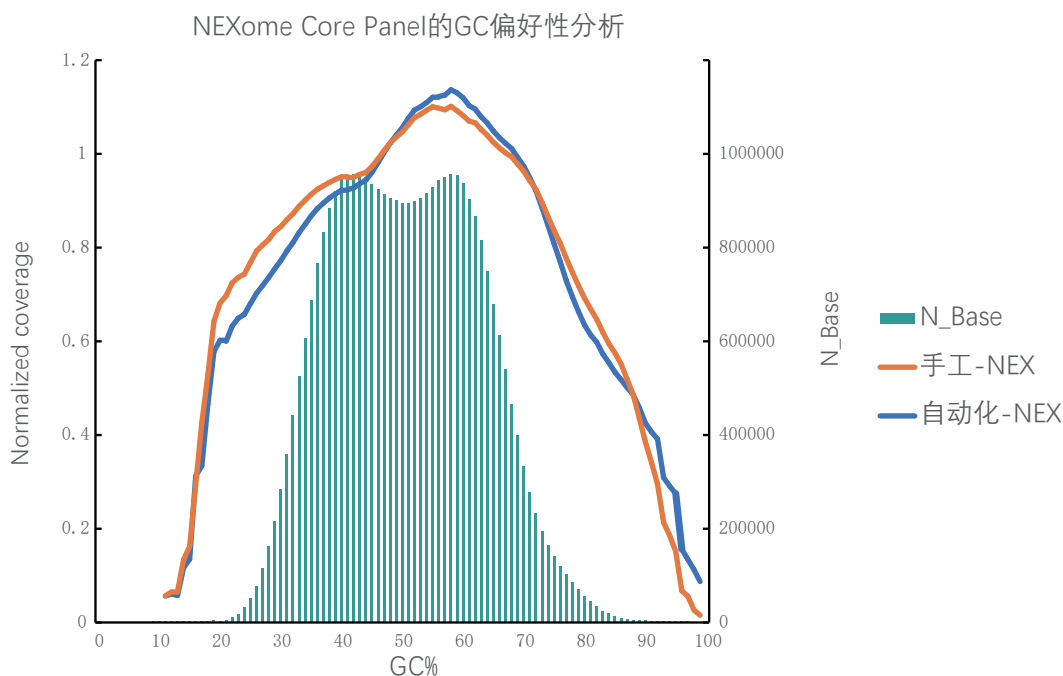


图4. LungCancer Panel和NEXome Core Panel的GC偏好性分析。

纳昂达靶向捕获panel搭配DNBSEQ平台
对相关变异鉴定准确

对LungCancer Panel搭配MGISP-Smart 8并利用MGISEQ-2000测序得到的结果进行进一步的变异检测分析发现，肿瘤中的SNV和InDel变异均能100%检出，并且实测突变频率与理论值较为一致

A

基因名称	突变位点	突变频率理论值(%)	实测突变频率(%)
NRAS	Q61K	1.00	1.37
KRAS	A146T	1.00	0.58
KRAS	G13D	4.00	3.34
KRAS	G12D	2.00	2.08
PIK3CA	H1047R	7.00	6.81
EGFR	G719S	4.00	4.13
EGFR	delE746_A750	2.00	1.39
EGFR	V769_D770_insASV	3.00	1.35
EGFR	T790M	2.00	1.44
EGFR	L858R	1.00	0.46
BRAF	V600E	7.00	5.57

($R^2=0.922$)(图5A, B)。同样，不同的杂交策略下 (1-plex和4-plex)，NEXome Core Panel搭配MGISP-Smart 8 & MGISEQ-2000亦能较好地检出相关等位基因，实测等位基因频率亦与理论值较为一致(R^2 分别为0.9612和0.9620，图6B)，且与手工建库的变异一致性分析结果相当($R^2=0.9625$ ，图6A)。

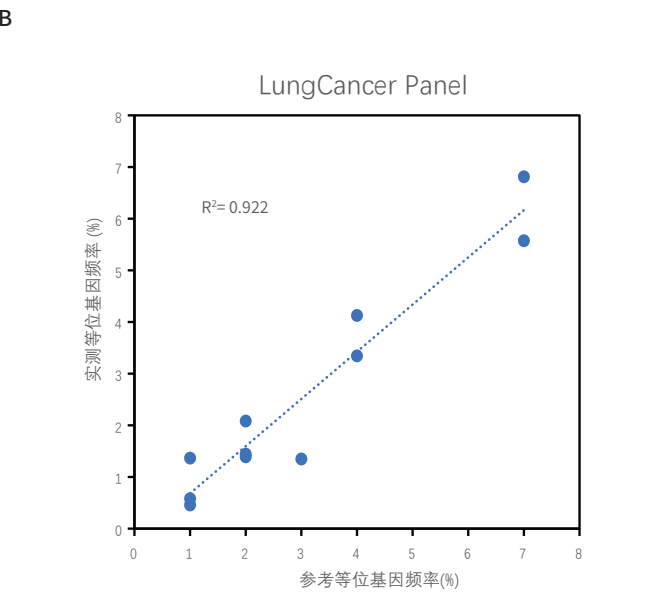


图5. 肺癌文库的变异检测结果及突变一致性分析。

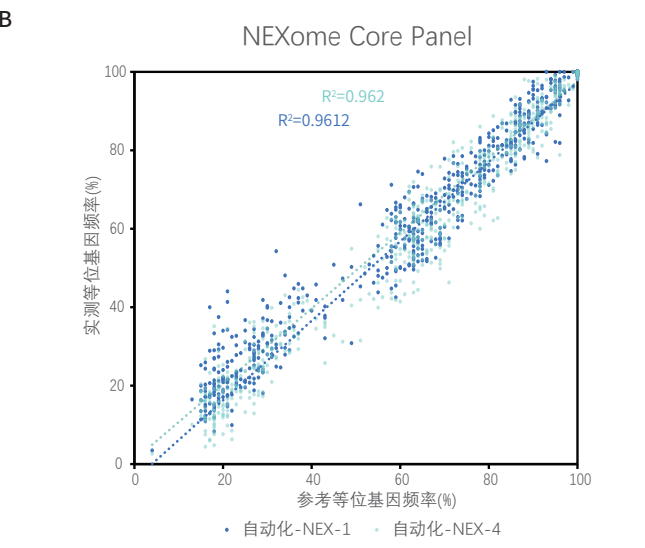
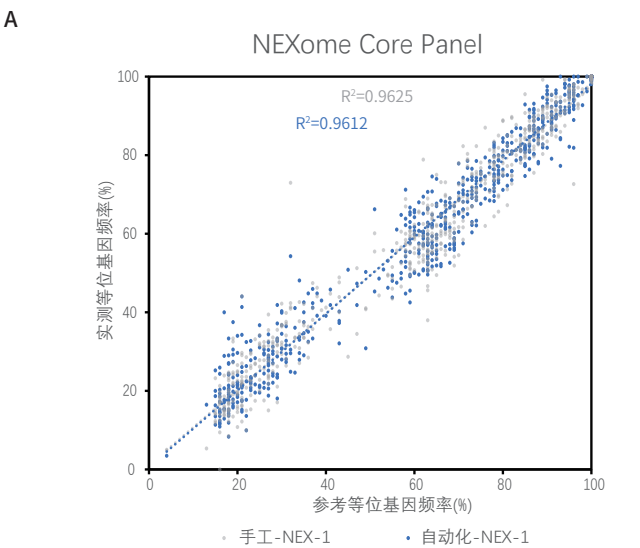


图6. 利用NEXome Core Panel采用不同杂交策略建库搭配DNBSEQ平台所获数据中等位基因频率与标准品等位基因频率的一致性分析。

仅供研究使用，不适用于临床诊断

总结

通过对纳昂达LungCancer Panel和NEXome Core Panel两款靶向捕获建库产品的综合性评估表明：纳昂达靶向捕获方案搭配搭载华大智造MGISP自动化系统，可以快速完成高通量测序湿实验环节；所得文库搭配华大智造DNBSEQ测序平台，可以输出高质量的测序数据。

MGISP-Smart 8自动化系统不仅可以实现1~48样本/轮的灵活建库通量，而且还可以自动化实现pooling、均一化及定量体系配制操作，在自动化效率提高的同时，极大地确保了结果的准确性，节约了人工成本。同时，MGISEQ-2000通量灵活，每次运行支持1~2张载片同时上机，支持多种测序读长，PE150-FCL仅需50 h，是大中型测序实验室的首选机型之一。



DNBSEQ-G99 基因测序仪



MGISEQ-2000 基因测序仪



MGISP-Smart 8 自动化样本制备系统

参考文献

1. Xuchao, Z. et al. Application of next-generation sequencing technology to precision medicine in cancer: joint consensus of the Tumor Biomarker Committee of the Chinese Society of Clinical Oncology. *Cancer Biology & Medicine* 16, doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2018.0142 (2019).
2. McInerney-Leo, A. M. & Duncan, E. L. Massively Parallel Sequencing for Rare Genetic Disorders: Potential and Pitfalls. *Frontiers in Endocrinology* 11, doi:10.3389/fendo.2020.628946 (2021).
3. Shi, C. et al. Development and clinical applications of an enclosed automated targeted NGS library preparation system. *Clinica Chimica Acta* 540, doi:10.1016/j.cca.2023.117224 (2023).
4. Hess, J. F. et al. Library preparation for next generation sequencing: A review of automation strategies. *Biotechnology Advances* 41, doi:10.1016/j.biotechadv.2020.107537 (2020).

推荐订购信息

产品类型	产品名称	产品货号
仪器	DNBSEQ-G99RS 基因测序仪	900-000561-00
	MGISEQ-2000RS基因测序仪	900-000035-00
	MGISP-Smart 8RS自动化样本制备系统	900-000504-00
建库试剂	NadPrep® EZ DNA Library Preparation Module v2(96 rxn)	1002602*
	NadPrep® Universal Adapter (MDI)Module Set B1 (for MGI, 96 rxn)	1003721*
	NEXome Core Panel(16 rxn)	1001852*
	LungCancer Panel v1.0(16 rxn)	1001922*
	NadPrep® Hybrid Capture Reagents(96 rxn)	1005101*
	NadPrep® NanoBlockers (for MGI, DI, 96 rxn)	1006208*
	NadPrep® M-Amplification Primer Mix (for MGI, DI, 96 rxn)	1004204*
测序试剂	DNBSEQ-G99RS 高通量测序试剂套装（G99 FCL PE150）	940-001269-00
	MGISEQ-2000RS 高通量测序试剂套装(FCS PE150)	1000011718
	MGISEQ-2000RS 高通量测序试剂套装(FCL PE150)	1000012555
	cPAS条形码引物3试剂盒	1000020834

*相关产品可登录纳昂达官网<http://www.njnad.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5月版

撰稿：张含菲
责任编辑：王其伟
审稿：江遥