

# ATOplex 新冠RNA多重PCR建库套装

——准确、快速、经济、灵敏和简单的SARS-CoV-2病毒检测

## 产品亮点

超高灵敏度	样本病毒浓度可低至10 copies/mL
精确定量	以人工合成的DNA为外参，精确量化样本中病毒浓度
出色表现	>99%的病毒全基因组覆盖率

## 产品概述

多重PCR是在常规PCR基础上发展出来的一种新型PCR技术,能够同时对多个靶标进行检测,不仅节省了时间和成本,更能从有限的基因组中提取大量的信息,可同时检测多种病原体,或鉴定某些病原微生物,某些遗传病,以及某些癌基因的分型。

华大智造基于ATOplex 定制化平台开发的超高重PCR扩增技术为SARS-CoV-2病毒的全基因组测序和流行病学研究提供了一条经济有效的方法,能够对极低含量的病毒进行上百万倍的富集,结合DNBSEQ平台测序技术获得高精度的冠状病毒基因分型。

## 产品性能参数

产品名(中文)	ATOplex 新冠RNA多重PCR建库套装
规格	96 RXN
样本来源	咽拭子, 肺泡灌洗液等
核酸来源	来自咽拭子和肺泡灌洗液等的全部核酸
应用方向	SARS-CoV-2的检测、变异监测和进化研究
检测范围	SARS-CoV-2全长基因组
片段大小	106-199 bps
扩增子数	273对引物/管
检测限	全长基因组测序需>10 copies, 检测需>10 copies/mL
检测变异类型	SNP, InDel
建库时间(样本到建库)	5小时
均一性(0.1X)	>95%
特异性	≥95%
推荐测序读长	全长基因组为PE100, 检测用为SE50
推荐总读长	5-20 M Reads/sample

## ■ 工作流程

多重 PCR 建库能够在同一管内完成 RNA 的反转录,通过两步 PCR 法完成对靶区域的捕获和富集,将 RNA 制备成兼容华大智造测序平台矩阵式纳米芯片的单链环状 DNA 文库。该试剂盒搭配 ATOPllex 平台定制的内参引物池,结合双 barcode 建库技术和 DNBSEQ 测序技术,能够最大程度降低样本之间的污染,快速、准确地获取病毒的全基因组序列,此外结合内部参照和外部参照,对病毒载量准确定量,适用于病毒检测、变异监测和病毒进化研究(图 1)。

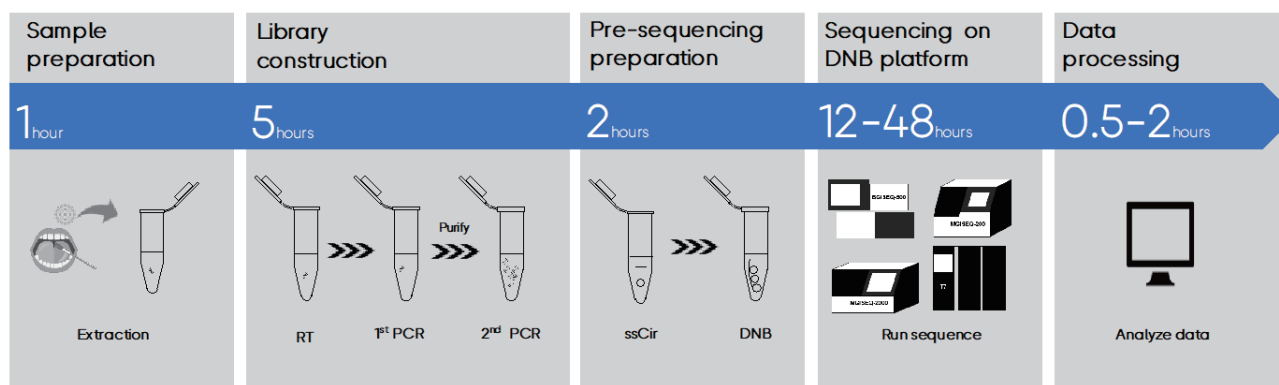


图1 ATOPllex平台检测全流程

## ■ 产品性能

### 灵敏度高

1 ng 人基因组 DNA 和人工合成已知拷贝数的 DNA 内参同时加入 6 个梯度稀释的新冠病毒培养物,随后直接进行多重靶向建库测序和 RT-qPCR 检测。结果(表 1)表明,多重靶向测序能够检测到稀释度高达  $10^{-6}$  的样本(约 10 copies/mL)。

表1 多重PCR与RT-PCR的结果对比

稀释度	原始 reads	多重PCR			RT-PCR
		病毒 reads	病毒测序深度	1X覆盖率%	Ct 值
$10^{-1}$	3,841,506	3,413,916	36054.7	99.7	21.8
$10^{-2}$	2,836,864	2,454,959	25698.0	99.8	25.5
$10^{-3}$	4,640,806	3,178,230	33132.2	99.7	29.7
$10^{-4}$	10,321,121	2,183,454	22796.5	99.7	32.8
$10^{-5}$	10,132,009	312,440	3242.5	99.5	36
$10^{-6}$	8,960,529	30,928	319.5	95.2	NO CT

## 准确定量病毒浓度

以已知浓度的人工合成的 DNA 为外参,能够精确量化样本中病毒浓度。将病毒培养液梯度稀释成含不同病毒载量的模拟样本进行检测性能评估,结果检测的样本病毒载量与稀释倍数具有良好的线性关系 ( $R^2 = 0.9979$ ),检测的结果与 RT-qPCR-Ct 值也具有较高一致性 ( $R^2 = 0.9933$ , 图 2)。

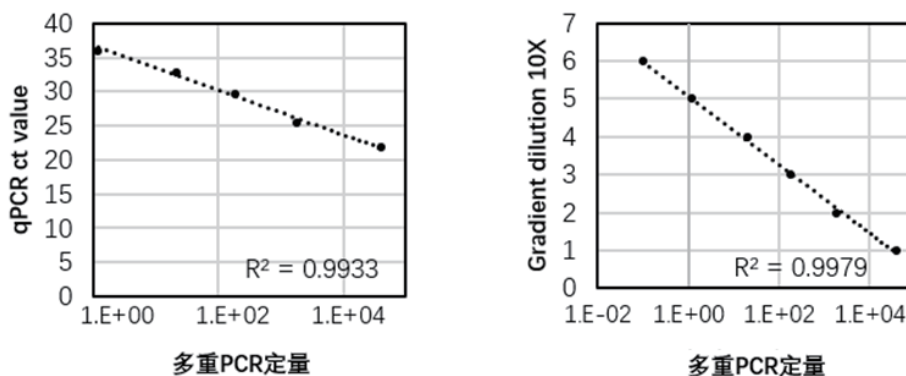


图2 多重PCR方法的定量结果 横坐标为病毒相对于外参的拷贝数,左图纵坐标为qPCR的Ct值,右图纵坐标为稀释浓度

## 组装全基因序列, 变异检出率高

对 Ct 值为 35 的新冠阳性临床样本,采用多重 PCR 技术建库,随后进行 PE100 测序,该样本 reads 数为 15 M,比率为 96.74%,最终组装出 29.9 Kb 的病毒基因组序列,并检测到 9 个 SNP 位点,1 个 INS 位点,3 个 DEL 位点 (表 2)。同时,根据最终组装的病毒序列构建了进化树,为病毒溯源提供了有力依据 (图 3)。

表2 病毒序列组装信息

Assembly length	Non-N ratio(%)	Number of SNPs	Number of INSS	Number of DELs
29903 bp	99.54	9	1	3



图3 构建的进化树展示 (病毒基因组获取于GISAID, 共来源26个国家): 图中标识红点为该样本

## ■ 总结

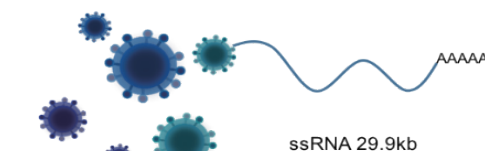
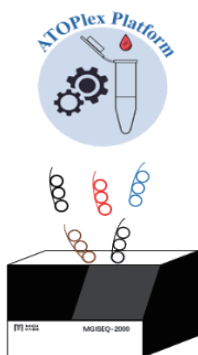
ATOplex 多重 PCR 技术利用锁定引物实现在一管中完成病毒全部基因片段的扩增, 相较于其他多重 PCR 方法, ATOplex RNA 多重 PCR 通用建库模块结合了双唯一标签技术和外参相对定量技术, 不仅能够获得病毒的全基因组, 还能通过掺入的已知外参准确定量样本的病毒浓度, 测序灵敏度更高, 适用范围广, 对不同起始量的多种类型样本均适用。

## 订购信息

货号	产品名
1000023555	ATOplex 新冠RNA多重PCR建库套装

## ■ 关于ATOplex平台

ATOplex 多重 PCR 定制化平台是华大智造自主研发的以超高重 PCR 技术为核心的产品定制平台。该平台涵盖了 DNA、RNA 和 DNA 甲基化方向, 可以满足科研、医药、司法、农业、DTC 等相关领域的个性化基因检测产品定制。ATOplex 多重 PCR 定制产品平台提供产品设计、建库试剂。此外, 还可以提供该系列产品基于 MGISP-100 或者 MGISP-960 的自动化建库产品组合。



ATOplex SARS-CoV-2 full length genome panel

## ■ 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: 4000-688-114  
2022年11月版 | MGPL113810100-01



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



[https://twitter.com/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。