

CoolMPS高通量测序试剂套装

让碱基识别更清晰

利用荧光标记方法通过 DNA 点阵成像获取碱基信号，是高通量测序技术的关键步骤之一。CoolMPS 高通量测序试剂套装是一款基于抗体的测序试剂产品，它使用的 dNTPs 未在碱基上标记荧光（简称 cold dNTPs）。在 DNA 聚合酶的作用下，这些 cold dNTPs 被聚合到测序链上，然后通过可与其特异结合的荧光标记抗体来实现无损碱基识别，具有独特的优势，能够让碱基识别更清晰。



天然碱基 无荧光标记 DNA聚合酶的保真性更好 错误率更低

高通量测序是基于 DNA 聚合酶催化的生化反应，带荧光标记的 dNTPs 会在聚合的碱基上留下“疤痕”，影响其与 DNA 聚合酶的结合，导致错误率增加。CoolMPS 中采用天然碱基（图 1），无荧光标记，生化反应时 DNA 聚合酶效率保真性更好，从而可以获得更准确的碱基质量。

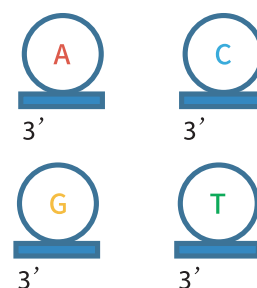


图 1 四种 cold dNTPs

抗体结合 可标记多个荧光分子 碱基信号增强 信噪比提高

将带有荧光标记的抗体与 cold dNTPs 进行特异结合，每个抗体分子可以标记 1 个或多个荧光分子（图 2），这意味着相同拷贝数模板，在 CoolMPS 测序中可以获得更强的信号和更高的信噪比，从而使碱基更准确。

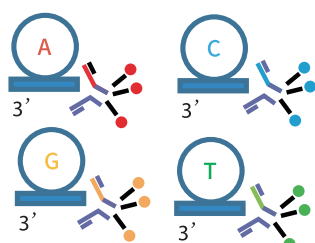


图 2 带荧光标记的抗体与对应 cold dNTPs 特异结合

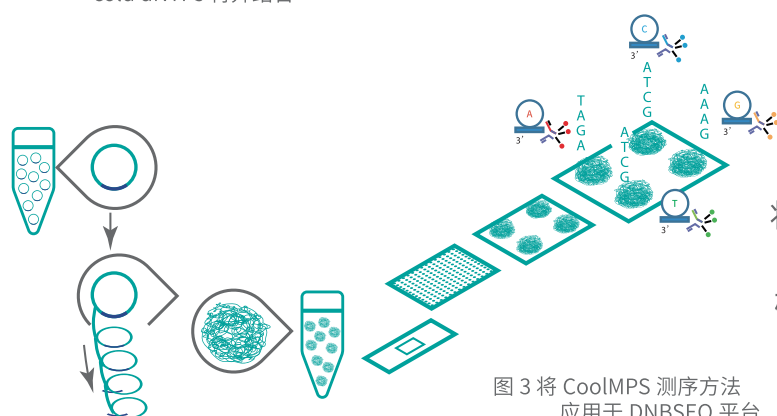


图 3 将 CoolMPS 测序方法应用于 DNBSEQ 平台

测序反应更完全 错误率更低 测序读长可进一步提升

将 CoolMPS 测序应用于 DNBSEQ 平台（图 3），能够最大程度还原原始模板信息，无累积扩增错误，无累积“疤痕”，测序反应更完全，错误率更低，测序读长可进一步提升。

性能表现

以插入片段为 320bp 的标准 E.coli 文库在 DNBSEQ 平台进行 CoolMPS PE100 测序的 demo 测试为例,随机选择 2 个 FOV,大约 2.4M reads 进行数据分析 (表 1),错误率低至 0.09%, Q30 高至 94%。测序质量下降平缓,即使到 PE100 的最后一个碱基, Q30 占比仍有 90% (图 4)。

图 4 碱基质量比例分布

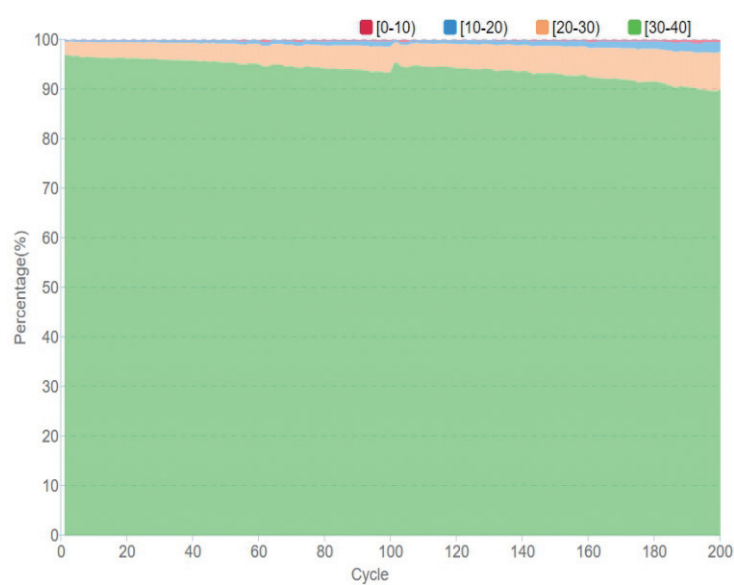
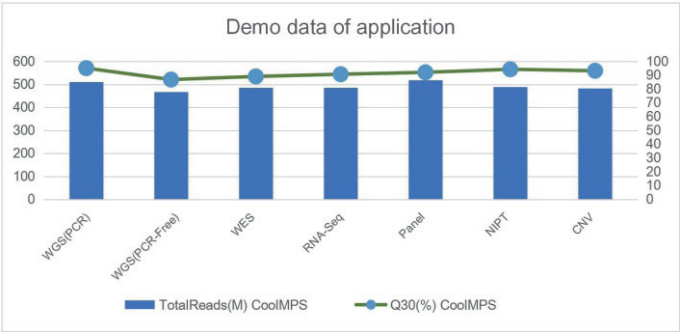


表 1 测序质量及比对结果

Category	Value
Total reads (M)	2.40
Mapping reads (M)	2.39
Duplication rate(%)	0.77
Q30 (%)	94.04
Runon1 (%)	0.03
Runon2 (%)	0.04
Lag1 (%)	0.12
Lag2 (%)	0.16
ESR (%)	85.20
Mapping rate (%)	99.68
Avg error rate (%)	0.09

图 5 CoolMPS 测序在 DNBSEQ 平台的 demo 数据



在 MGISEQ-2000 使用 CoolMPS 对不同类型样本进行测序：每条 lane 的 Total Reads 稳定保持在 460M 以上，Q30 最高可达 95% (图 5)。

应用案例

样本类型

FFPE 标准品 Horizon HD200

建库策略

靶向建库

测序平台

MGISEQ-2000

测序策略

CoolMPS PE100

测序结果

- 1. 数据质控结果（表 2）显示，基因组比对率 >99%，Q30>92%；
- 2. 检测位点突变频率结果（表 3），接近理论值（图 6）。

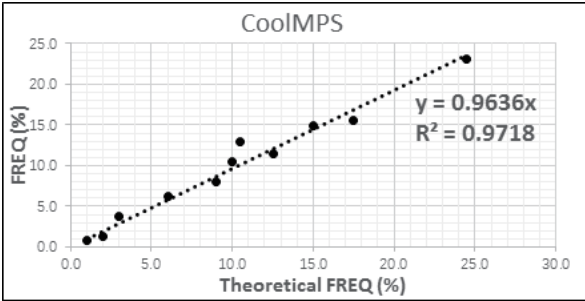
表 3 突变频率检测结果

Variant	Theoretically Frequency(%)	Measured frequency(%)	CV(%)	STD(%)
T790M	1.00	0.80	4.02	0.03
E746_A750del	2.00	1.33	9.77	0.13
L858R	3.00	3.76	2.64	0.10
G12D	6.00	6.22	1.51	0.09
E545K	9.00	8.07	2.49	0.20
D816V	10.00	10.52	3.17	0.33
V600E	10.50	12.91	1.56	0.20
Q61K	12.50	11.41	3.54	0.40
G13D	15.00	14.92	1.29	0.19
H1047R	17.50	15.58	1.92	0.30
G719S	24.50	23.07	0.70	0.16

表 2 数据质控结果

Category	Value
Q30 clean(%)	92.10
Mapping Rate(%)	99.88
Capture rate(%)	97.05
Coverage (>=100X) (%)	99.36
Uniformity (>0.2x) (%)	97.21

图 6 检测与理论频率相关性



样本类型

NA12878

建库策略

MGI V5外显子建库

测序平台

MGISEQ-2000

测序策略

CoolMPS PE100

表 4 WES分析结果

Sample	WES-NA12878
Insert - size	258
Average - depth(rmdup)	102
Rate - clean	98. 22%
Q20 - clean	96. 24%
Q30 - clean	88. 31%
Mapping - Rate	98. 55%
Duplication - Rate	12. 24%
Capture - Rate - on - Reads	63. 75%
Uniformity (> 0. 2f)	94. 51%
SNP - Sensitivity	0. 9867
SNP - F - measure	0. 9917
InDel - Sensitivity	0. 8755
InDel - F - measure	0. 8994

测序结果

对 4 个 NA12878 样本的 WES 数据截取了 100X 平均深度的数据，采用 MegaBolt 软件进行了同步分析比较，测序数据的 Clean Rate 和 Mapping Rate 表现良好（表 4），且覆盖度均一。

让碱基识别 更清晰



CoolMPS 高通量
测序试剂套装



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
518083

 www.mgi-tech.com  MGI-service@mgi-tech.com

4000-966-988

版本：2021年10月版 | MGPD2012201