

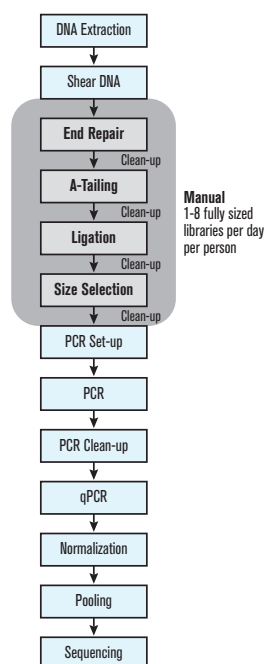
二代测序文库构建自动化解决方案

—Biomek NX^P 自动化工作站

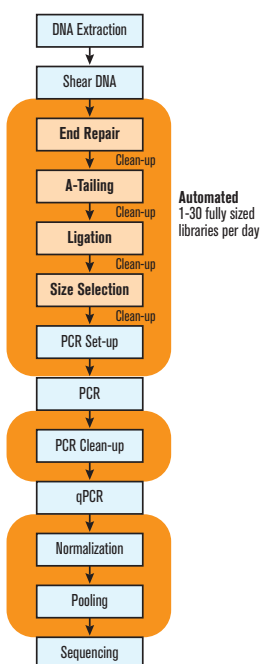
在二代测序整个实验流程中，文库构建需要大量的手工操作时间，被认为是样品制备的瓶颈之一。Multiplexing 的出现使得实验室要比以往准备更多的样本，因此对样本制备速度提出了更高要求。在 Biomek NX^P 上进行文库构建，减少了手工文库构建的时间，极大提高了工作效率，增加了结果的重复性和均一性。

Biomek NX^P 进行全自动文库构建，支持的样本类型包括片段化 DNA、gDNA、cDNA 和扩增子，可进行从末端修复到 PCR 富集的整个流程，搭配 AMPure XP 试剂能够实现高通量的反应体系纯化。

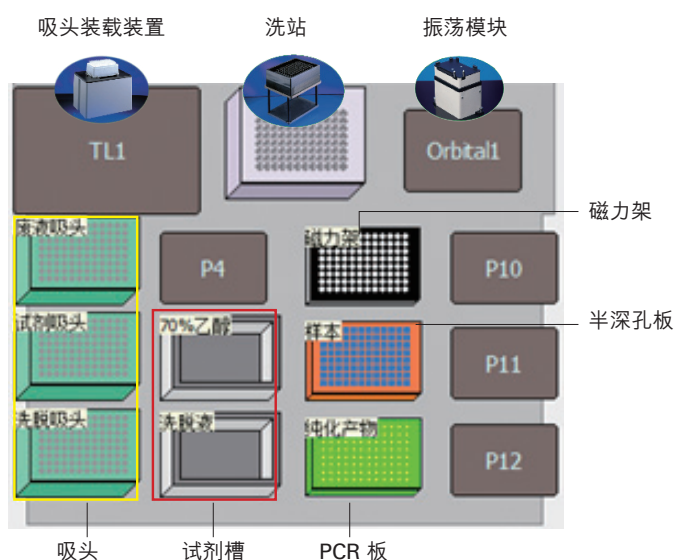
手工操作流程



Biomek NX^P 自动化流程



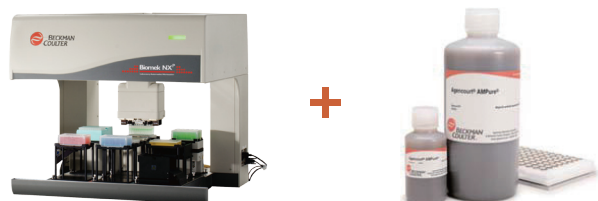
AMPure XP 产物纯化台面布局



96个样本的产物纯化所需耗材: 3盒200ul 吸头, 2个试剂槽, 1个半深孔板, 1个PCR板和1个磁力架。Biomek NX^P 自动化工作站使用的耗材和试剂品牌开放, 用户可根据需要选择国产/进口品牌的耗材和试剂, 成本掌握在用户手中。

Biomek NX^P 配置了特色洗站, 该洗站外接蠕动泵及液瓶, 自动灌注清洗液, 自动抽出废液。通过吸头的反复吸放液方式清洗吸头, 可同时对吸头的内壁及外壁进行清洗, 在避免交叉污染的基础上增加了一次性吸头重复利用的次数, 极大的降低了运行成本; 同时, 洗站可以作为体积无限的废液收集装置, 将废液打入洗站中。

Biomek NX^P 配置了高速轨迹式振荡模块, 振速 0-1800RPM。振荡模式可进行程序设定, 如顺时针、逆时针交替进行, 还可设置从静止状态到设定振速的时间及振荡时间。模块上带有自动感应锁扣装置, 在振荡开始之前, 感应锁扣将自动将板锁紧, 然后开始按照预设的振荡速度及模式进行振荡, 过程安全可靠。本方案中应用于磁珠和样本的快速混匀。

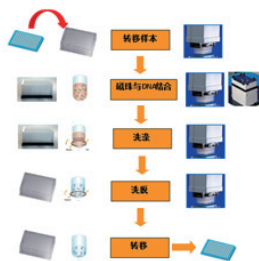


Discovery
in motion.

BECKMAN
COULTER

Life Sciences

AMPure XP 产物纯化流程



AMPure XP 产物纯化方法

- 开始
- 台面布局
- 加磁珠和样本
- 乙醇洗涤2遍
- 洗脱
- 结束

样本经过磁珠结合、洗涤和洗脱几个步骤即可完成产物纯化过程。纯化 96 个样本仅需 30 分钟。

二代测序文库构建实验结果

1. 样本浓度和峰图

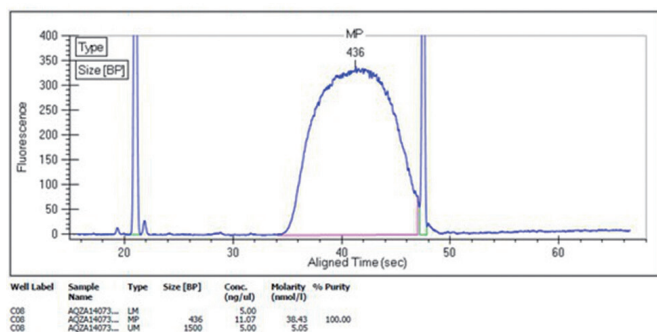


Fig1. 将 DNA 依照二代建库标准流程进行建库，构建文库稀释 10 倍后用 Labchip GX/GXII 检测浓度和峰图。

2. 交叉污染检测方案

1.200bp 基因组小片段 DNA 稀释为 2/41ng/uL(A)，依照二代测序建库流程进行建库，并在样本间穿插 ddH₂O 作为阴性 (N)；

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A1			A7				N5				A19
B	N1			A8				A13				A20
C	A2			N3				A14				A21
D	A3			A9				A15				N7
E	A4			A10				N6				A22
F	N2			A11				A16				A23
G	A5			N4				A17				A24
H	A6			A12				A18				N8

表 1 纯化测试样本与阴性分布

2. 使用 Biomek NX[®] 工作站进行纯化操作；
3. 文库送交 QC 检测。

结果

共 32 个样本，其中 24 个小片段 DNA，8 个阴性。

1. 文库浓度

样本编号	质量浓度 (ng/uL)	摩尔浓度 (nmol/l)	样本编号	质量浓度 (ng/uL)	摩尔浓度 (nmol/l)
A1	50.00	130.01	N5	0.00	0.00
N1	0.00	0.00	A13	58.91	146.38
A2	52.13	242.20	A14	56.50	134.59
A3	60.72	187.26	A15	53.08	167.82
A4	56.44	191.62	N6	0.00	0.00
N2	0.00	0.00	A16	57.04	86.87
A5	59.94	135.49	A17	49.50	229.21
A6	64.68	145.54	A18	56.92	237.86
A7	54.18	242.93	A19	48.71	234.22
A8	51.61	275.16	A20	56.91	244.04
N3	0.00	0.00	A21	52.57	235.37
A9	54.65	245.82	N7	0.00	0.00
A10	51.75	278.58	A22	54.74	263.58
A11	54.41	257.13	A23	62.92	240.97
N4	0.00	0.00	A24	59.84	219.57
A12	57.29	276.81	N8	0.00	0.00

2. 峰图

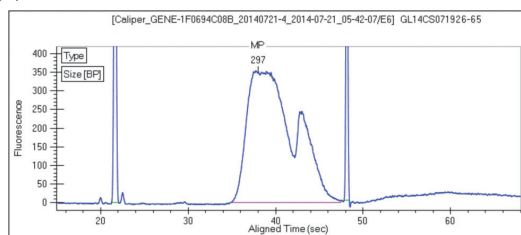


图 1 样本 A20 峰图

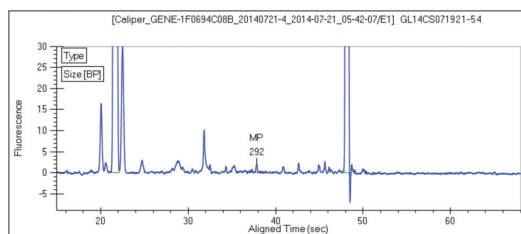


图 2 阴性 N6 峰图

根据以上数据和峰图，可见使用 Biomek NX[®] 自动化工作站建库纯化，有效避免了交叉污染；构建文库的浓度均在 48-64ng/uL 之间，浓度均一性良好。



贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司

上海市浦东新区福山路500号城建国际中心12层 邮编: 200122 电话: 021-38651000 网址: www.beckmancoulter.com.cn

广州 020-8518 7188	福州 0591-8850 5800	成都 028-8621 0135	武汉 027-8823 2300	南京 025-6667 6033	杭州 0571-8767 8208	北京 010-6521 3000
西安 029-8833 7440	哈尔滨 0451-5555 0637	郑州 0371-5563 7430	济南 0531-8096 5011	沈阳 024-3195 8690	昆明 0871-6361 7528	乌鲁木齐 0991-2952 790