

MGISEQ-2000兼容Microwell-seq 单细胞平台绘制小鼠细胞图谱

华大智造MGISEQ-2000应用案例

■ 亮点



高兼容性和高性价比

华大智造利用文库转换技术可将第三方文库转化到DNBSEQ平台上进行测序，产出与其他同类产品一致的测序结果，但测序成本更低，为用户提供更多样，更高性价比，更灵活的测序方法选择



高测序数据质量

华大智造独有的DNBSEQ™技术具有高准确性、低重复序列率、低标签跳跃的重要特性，可始终扩增原版DNA，避免错误积累，并兼具测序信号强度和准确性，以实现最高效准确的大规模并行测序



灵活测序方法选择

MGISEQ-2000测序仪采用双载片平台，在双载片独立运行的基础上，支持不同规格的载片，提供更全面更灵活的测序体验

■ 背景

华大智造测序平台具有开放性与灵活性，可与市面上现有的多种建库技术兼容，同时支持用户端进行测序平台转换，为用户提供高效且低成本的测序产品。已有基于单细胞RNA测序研究结果表明，与市面上其他同类产品相比，华大智造产出的测序数据具有可比性，且成本更低。华大智造DNBSEQ平台不仅与第三方的单细胞生物技术兼容，而且通过其通用转换技术也可用于肿瘤检测、外显子测序和传染病检测等应用提供有效且经济实惠的产品。

■ 应用案例 单细胞测序绘制小鼠成年肾上腺细胞图谱¹

近年来，单细胞RNA测序（scRNA-seq）发展迅速，已成为分析细胞异质性、揭示细胞状态和识别细胞类型的基础研究方法。在2018年，浙江大学医学院干细胞与再生医学中心郭国骥教授团队利用自主研发的高通量单细胞测序方法“Microwell-seq”构建出全球首个哺乳动物细胞图谱，“Microwell-seq”利用微孔矩阵、分子标记和扩增技术，高通量、高精度地实现单细胞水平分析，具有快捷简便、低成本、高效率等优势。大多数的cDNA文库测序依靠昂贵的进口测序平台，成本门槛高。在此研究中，郭国骥研究团队将Microwell-seq与国产测序仪MGISEQ-2000相结合，在单细胞的层面绘制小鼠肾上腺细胞转录组图谱，并评估了MGISEQ-2000测序平台进行scRNA-seq测序的性能和成本，将其与使用最广泛的进口Illumina HiSeq测序平台的单细胞数据进行了比较。

实验方法

小鼠肾上腺细胞制备

从6~8周的C57BL/6小鼠中提取3批肾上腺，组织切除后立即放入DMEM加10%FBS中，并在冰上剪成约~1毫米的碎片。随后用冷的DPBS冲洗两次，并悬浮在含有解离酶的5毫升溶液中，使用IV型胶原处理（37℃ 30min）。离解细胞在300×g下4℃离心5min，再悬浮于3ml冷的DPBS中。经40μm过滤器（Biologix）后，细胞被洗涤两次，在300×g下4℃离心5min，在含2mM EDTA的冷DPBS中以1×10⁵个细胞/ml的密度重新悬浮。

文库制备

所有肾上腺细胞悬液均按标准的Microwell-seq方法处理获得cDNA文库。纯化的cDNA文库使用定制化的转座酶（TruePrep DNA Library Prep Kit V2 for Illumina, Vazyme, 货号：TD513）打断。使用MGIEasy通用文库转换试剂盒（App-A）（华大智造，货号：1000004155）转化文库以适配MGISEQ-2000测序平台。

表1 小鼠肾上腺细胞分别在MGISEQ-2000和HiSeq平台测序

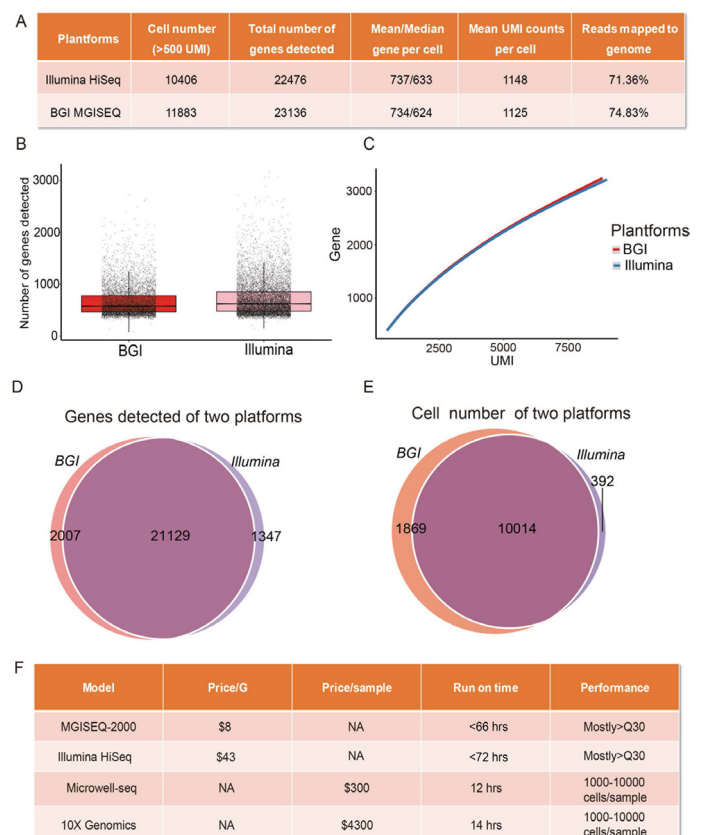
样本	细胞制备条件	scRNA-seq平台	文库制备方法	测序平台	测序深度	细胞数量
Mouse Adrenal gland Bacth1	collagenaseIV 37 °C , 30 min	Microwell-seq	Vazyme TD513	Illumina HiSeq	around 150M Reads	4370
Mouse Adrenal gland Bacth2	collagenaseIV 37 °C , 30 min	Microwell-seq	Vazyme TD513	Illumina HiSeq	around 150M Reads	1195
Mouse Adrenal gland Bacth3	collagenaseIV 37 °C , 30 min	Microwell-seq	Vazyme TD513	Illumina HiSeq	around 150M Reads	4841
Mouse Adrenal gland Bacth1	collagenaseIV 37 °C , 30 min	Microwell-seq	Vazyme TD513+MGI 1000004155	MGISEQ-2000	around 150M Reads	4112
Mouse Adrenal gland Bacth2	collagenaseIV 37 °C , 30 min	Microwell-seq	Vazyme TD513+MGI 1000004155	MGISEQ-2000	around 150M Reads	1177
Mouse Adrenal gland Bacth3	collagenaseIV 37 °C , 30 min	Microwell-seq	Vazyme TD513+MGI 1000004155	MGISEQ-2000	around 150M Reads	6594

小鼠肾上腺细胞clustering分析及不同测序平台数据比较

输入数字基因表达（DGE）数据，使用Seurat软件进行clustering分析。在PCA分析前使用线性模型回归来消除批次效应和文库大小带来的不必要差异。为了比较MGISEQ-2000平台和HiSeq平台产生的小鼠肾上腺数据，使用相同的测序深度和分析原理对细胞进行了分类。由DoHeatmap函数生成的热图是判断clustering质量的基础之一，高差异表达基因在热图上表示。

结果

该研究使用华大智造国产MGISEQ-2000测序平台和Illumina HiSeq测序平台对匹配的小鼠肾上腺单细胞cDNA文库进行测序，结果显示MGISEQ-2000平台和HiSeq平台在测序质量、细胞数、每个细胞的平均UMI计数、单个细胞中检测到的基因的中位数等方面具有高度可比性（图1）。研究人员分别从MGISEQ-2000平台和HiSeq平台产生的数据中检测到11,883个细胞和10,406个细胞。并且当使用联合单细胞数据时，MGISEQ-2000提供的基因比HiSeq平台更多。



- A. 使用MGISEQ-2000和HiSeq平台进行匹配的小鼠肾上腺单细胞cDNA文库测序，对两个平台产生的结果进行比较。
 B. 基于来自两个测序平台的匹配reads检测到的基因数。
 C. 线图显示两个测序平台关于匹配UMI的基因数目。
 D. 总结了两个平台检测到的基因，分别从MGISEQ-2000平台和HiSeq平台产生的数据中检测到23,136个基因和22,476个基因。
 E. 总结了两个平台检测到的细胞数，分别从MGISEQ-2000平台和HiSeq平台产生的数据中检测到11,883个细胞和10,406个细胞。
 F. MGISEQ-2000和HiSeq平台、Microwell-seq和10x Genomics的对比。Q30是指示测序准确度的一个值，即测序过程中碱基错误比例<0.1。高Q30值表明测序质量高。

图1 MGISEQ-2000平台和HiSeq平台数据综合比较

研究团队使用Microwell-seq，分别在MGISEQ-2000平台和HiSeq平台上进行测序，成功绘制出11,883个小鼠肾上腺细胞的全部转录组，并将细胞分为18种转录不同的细胞类型（图2）。结果表明最终文库在两个不同的测序平台上具有相似的簇和基因表达模式，而两个平台的测序成本却有很大差异，MGISEQ-2000平台单G成本仅占HiSeq平台的25%左右，而Microwell-seq和华大智造测序平台的结合使单细胞转录组分析的成本比目前使用的10x Genomics和HiSeq平台的组合约低10倍（图1）。

Figure S4

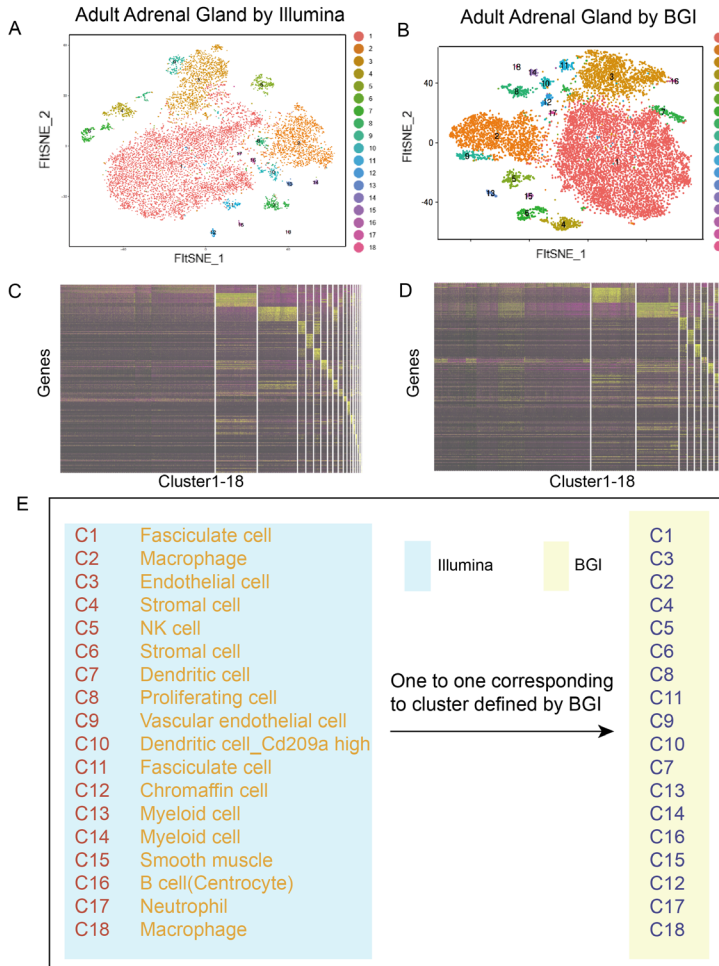


图2 MGISEQ-2000平台和HiSeq平台t-SNE 和 heat maps的比较

结论

华大智造MGISEQ-2000测序仪在产量、价格和效率方面都具有竞争优势。MGISEQ-2000与Microwell-seq搭配，性价比高，工作稳定性强，为单细胞测序的研究分析提供完全国产化且高效可靠的高通量技术支持。研究团队表示，他们对该系统在未来的普及和发展很有信心，而基于该技术获得的哺乳动物肾上腺图谱有助于在科研和临床医学上的探索，特别是为肾上腺相关疾病的临床治疗提供指导。

使用华大智造的MGIEasy 通用文库转换试剂盒（App-A）（货号：1000004155）和MGISEQ-2000RS高通量测序试剂套装（App-A）可以将Illumina文库转化到MGISEQ-2000RS平台上进行测序，产出与Illumina测序平台一致的单细胞转录组测序结果，但测序成本更低，为用户提供更多样，更高性价比，更灵活的测序方法选择。

参考文献

1. Lai, Shujing, et al. "Mapping a mammalian adult adrenal gland hierarchy across species by microwell-seq." *Cell Regeneration* 9(1) (2020): 1-12.

■ 订购信息

设备

产品	规格	货号
基因测序仪MGISEQ-2000RS	台	900-000035-00

文库转化试剂盒

产品	规格	货号
MGI Easy通用文库转换试剂盒 (App-A)	16 RXN	1000004155

测序试剂

产品	最大支持循环数	货号
MGISEQ-2000RS 高通量测序试剂套装 (App-A) (SE50)	70 Cycles	1000014049
MGISEQ-2000RS 高通量测序试剂套装 (App-A) (PE100)	220 Cycles	1000005662
MGISEQ-2000RS 高通量测序试剂套装 (App-A) (PE150)	320 Cycles	1000014051
MGISEQ-2000RS 高通量快速测序试剂套装 (App-A FCS SE100)	120 Cycles	1000023780
MGISEQ-2000RS 高通量快速测序试剂套装 (App-A FCS PE100)	220 Cycles	1000023781
MGISEQ-2000RS 高通量快速测序试剂套装 (App-A FCS PE150)	320 Cycles	1000023782

深圳华大智造科技股份有限公司

MGI-service@mgi-tech.com | www.mgi-tech.com | 4000-688-114 | 深圳市盐田区北山工业区综合楼及11栋2楼

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。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。