

# Illumina DNA Prep

快速、一体化的文库制备工作流程，适用于多种测序应用

- 在 3 小时内以最少的手动操作完成文库制备
- 整合了血液样本的 DNA 提取方案，提高文库制备效率
- 支持广泛的 DNA 起始量（1-500 ng）和多种 DNA 作为起始材料
- 能够对大小型基因组和扩增子进行测序，应用范围广泛

illumina®

## 简介

虽然新一代测序（NGS）技术的发展加快了基因组研究的步伐，许多实验室在 NGS 工作流程的文库制备阶段仍然遭遇瓶颈。文库制备前后需要多个步骤，因此许多实验室在开始测序运行之前将大量时间耗费在文库制备上。文库制备前的步骤包括 DNA 提取、定量和片段化，而文库制备之后则需要文库质量评估、文库定量和归一化。

Nextera™ DNA Library Preparation Kit 采用了转座酶片段化技术，将 DNA 片段化和接头连接步骤合并到一个 15 分钟的反应中，并将文库制备时间缩短至 90 分钟。Nextera XT DNA Library Prep Kit 无需在文库混合和测序之前进行文库定量<sup>1</sup>。在这些创新的基础上，Illumina DNA Prep Kit\* 提供了一种独特的化学方法（图 1，表 1），整合了 DNA 提取、片段化、文库制备和文库归一化步骤，从而提供了因美纳文库制备产品组合中最快速、最灵活的工作流程。（图 2，表 2）。

除了快速的工作流程外，Illumina DNA Prep Kit 还支持灵活的样本类型、DNA 起始量和宽泛的应用范围。从人类全基因组测序（WGS）到小型微生物质粒，Illumina DNA Prep Kit 可提供均一的基因组覆盖度和卓越的数据质量。

## 快速的文库制备工作流程

Illumina DNA Prep Kit 的各项功能相辅相成，提供因美纳产品组合中最快速的文库制备工作流程。磁珠固化转座酶片段化技术是一项重大进步，与在溶液中进行的转座酶片段化相比，采用与磁珠结合的转座酶可实现更均一的转座酶片段化反应。磁珠结合的转座酶结合 DNA 达到饱和后，不会产生额外的片段化反应，实现高度均一的基于饱和的归一化过程。

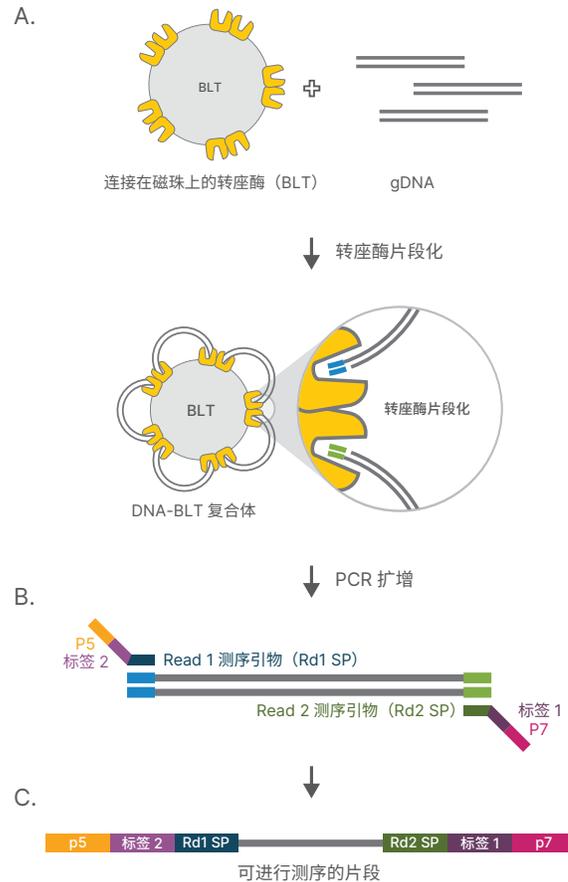


图 1: 因美纳与磁珠结合的转座酶化学技术——(A) 与磁珠结合的转座酶介导 gDNA 片段化的同时添加测序引物。(B) 通过较少循环数的 PCR 扩增获得可供测序的 DNA 片段，并添加标签和接头。(C) 对可上机测序的片段进行洗脱并混合。

表 1: Illumina DNA Prep 规格

参数	规格 / 描述
DNA 起始材料类型	gDNA、血液、唾液、PCR 扩增子、质粒、干血斑
所需 DNA 起始量	1-500 ng, 小型基因组 100-500 ng, 大型基因组
样本多重分析	24 个单标签, 384 个双标签
支持的测序系统	所有因美纳系统
总工作流程时间 <sup>a</sup> (gDNA)	3-4 小时

a. 包括 DNA 提取、文库制备及文库归一化 / 混合步骤。

\* 原名为 Nextera DNA Flex Library Preparation Kit。

该策略有以下显著优势：

- 对于 100–500 ng 范围的 DNA 上样量无需准确定量 DNA 样本浓度。在这个范围内，DNA 插入片段的大小不受 DNA 起始量的影响，节省了繁琐的文库定量过程所需的时间和成本
- 采用磁珠固化转座酶片段化技术，无需单独进行 DNA 片段化步骤（机械法或酶切法），节省了使用机械剪切仪器或酶切试剂盒的时间和成本
- DNA 起始量在 100–500 ng 之间时，磁珠固化转座酶片段化因 DNA 饱和而达到归一化的效果，混合前无需进行耗时的文库定量和归一化

此外，用户友好型工作流程减少了手动操作步骤，并支持液体处理系统以进行自动化文库制备。综合以上优势，Illumina DNA Prep 是因美纳产品组合中步骤最少、操作总时间最短的工作流程（图 2）。

#### TruSeq Nano

DNA 提取	DNA 定量	DNA 片段化	使用接头连接和加标签进行文库制备	文库定量	手动归一化和混合	约 11 小时 TWT
1 小时	0.5 小时	1 小时	6 小时	0.5 小时	2 小时	

#### Nextera XT

DNA 提取	DNA 定量	使用 Nextera 转座酶片段化进行文库制备	基于磁珠的归一化和混合	约 5.5 小时 TWT
1 小时	0.5 小时	2.5 小时	1.5 小时	

#### Illumina DNA Prep

DNA 提取	DNA 定量	使用 Nextera 转座酶片段化和整合归一化进行文库制备	约 4 小时 TWT
1 小时	0.5 小时	2.5 小时	

#### Illumina DNA Prep (血液)

Flex Lysis Kit	使用 Nextera 转座酶片段化和整合归一化进行无定量文库制备	约 3 小时 TWT
0.5 小时	2.5 小时	

图 2：Illumina DNA Prep 提供最快的因美纳工作流程——该计算基于使用多通道移液器同时处理 16 个样本。TWT 指从 DNA 提取到文库归一化并混合的总工作流程时间。通过假定具体方法计算工作流程各步骤时间：DNA 提取（QIAamp DNA Mini Kit 或 Flex Lysis Kit）、DNA 定量（Qubit）、DNA 片段化（Covaris）和手动文库归一化和混合（生物分析仪）。时间长短因使用的设备、处理的样本数量、自动化程序或用户经验而异。灰色部分的工作流程步骤不包括在文库制备试剂盒内。

表 2：因美纳文库制备工作流程比较

	TruSeq DNA Nano	Nextera XT	Illumina DNA Prep <sup>a,b</sup>
包含整合的 DNA 裂解步骤	—	—	✓
灵活、较宽的 DNA 起始量范围	—	—	✓
包含文库归一化步骤	—	✓	✓
DNA 起始量	100-200 ng	1 ng	1-500 ng
文库制备总时间 <sup>c</sup>	11 小时	5 小时	3-4 小时
插入片段大小	350 bp 或 550 bp	< 300 bp	300-350 bp
样本多重分析	96 个双标签	384 个双标签	24 个单标签；384 个双标签

a. 整合的 DNA 提取方案适用于血液和干血斑样本。

b. DNA 起始量不低于 100 ng 时含文库归一化。

c. 包括 DNA 提取、文库制备及文库归一化 / 混合步骤。

## 整合的起始 DNA 提取步骤

使用 Illumina DNA Prep Kit 和 Flex Lysis Reagent Kit，可以直接从新鲜血液样本中提取 DNA。可选的 Flex Lysis Reagent Kit 经过优化和验证，可与 Illumina DNA Prep 配合使用，并完全整合了工作流程步骤、试剂和用户使用说明书，以实现最高效率。裂解实验方案采用基于磁珠的便捷试剂，手动操作时间少于 30 分钟，并可直接用于 Illumina DNA Prep 的转座酶片段化反应。

## 经过优化的性能

磁珠固化转座酶片段化技术的特性使文库制备性能得到显著改进。Illumina DNA Prep Kit 可在较宽的 DNA 起始量范围（1–500 ng）内产生高度均一且大小一致的插入片段（300–350 bp）（图 3）。磁珠固化转座酶片段化技术能在较宽的 DNA 起始量范围内生成大小均一的插入片段，因此无需优化转座酶与 DNA 比值来控制片段长度。此外，较宽的 DNA 起始量范围让使用各种样本类型（包括珍贵的样本）的实验更加灵活。除了均一的插入片段大小外，磁珠固化转座酶片段化技术还可在较宽的 DNA 起始量范围（100–500 ng）内提供产量稳定且均一化的文库（图 4）。起始量在 100 ng DNA 或接近该起始量时，磁珠已经饱和，从而获得稳定的均一化产量，且无需耗费时间在混合前进行文库定量和归一化。比较 Illumina DNA Prep 和 TruSeq™ DNA Nano Library Prep Kit 的性能时，Illumina DNA Prep Kit 的性能与机械法片段化相当，在部分参数上甚至表现更佳（表 3）。

除了基于磁珠技术的工作流程改进之外，稳定和均一的插入片段大小和文库产量的最重要优势是对人类和非人类物种的基因组实现更均一的覆盖（图 5A）。无论是高 GC 还是低 GC 含量的基因组，其覆盖度都十分均一，没有区域特异性偏向（图 5B）。

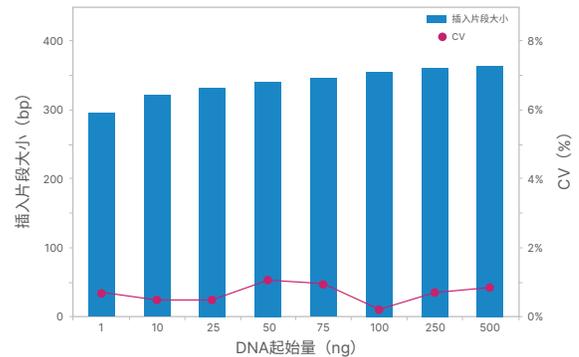


图 3: 稳定且均一的插入片段大小——磁珠固化转座酶片段化技术可为较宽的 DNA 起始量范围提供一致的插入片段大小。DNA 起始量从 1–500 ng 不等，总变系数 (CV) 为 6.09%。使用大肠杆菌重复样本制备文库，并在 MiSeq™ 系统上运行 (2×76 bp)。

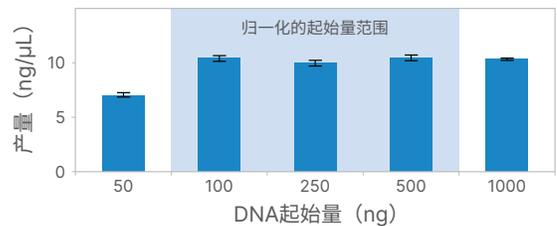


图 4: 片段化和归一化的文库——磁珠在 DNA 在 100 ng 或超过 100 ng 时达到饱和，得到产量一致的片段化 DNA 文库，无需再进行下游文库归一化步骤。使用人 -NA12878 样本 (Coriell 医学研究所) 制备文库，并在 MiSeq 系统 (2×76 bp) 上运行。

表 3: Illumina DNA Prep 性能

参数 <sup>a</sup>	Illumina DNA Prep	TruSeq Nano
双端 read PF	3.7×10 <sup>8</sup>	3.7×10 <sup>8</sup>
常染色体基因检出率	96.5%	96.9%
常染色体外显子检出率	98.4%	98.4%
常染色体覆盖度 >10×	98.5%	98.6%
SNV 查全率	98.7%	98.7%
SNV 查准率	99.8%	99.7%
插入缺失查全率	93.7%	92.9%
插入缺失查准率	97.0%	94.9%

a. 分析基于 20 个样本（全部为 NA127 Coriell 样本）的运行数据，分 5 次运行，接近 30X 测序深度的人类基因组。使用 BaseSpace™ App、Whole Genome Sequencing v6.0.0 和 Variant Calling Assessment Tool v3.0.0 进行数据分析。SNV: 单核苷酸变异，Indel: 插入缺失变异。

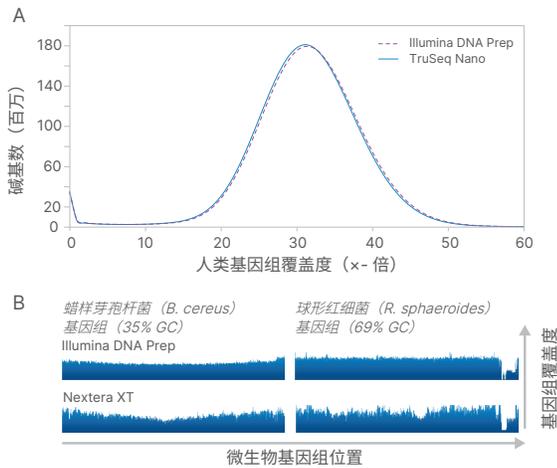


图 5: 提高覆盖均一性——(A) Illumina DNA Prep 可实现与 TruSeq DNA Nano kit 水平相当的全基因组均一覆盖度。文库来自人 -NA12878 样本 (Coriell 医学研究所), 使用 Illumina DNA Prep 或 TruSeq DNA Nano kit 制备获得。测序过程在 HiSeq X™ 系统 (2×151 bp) 上进行。(B) 显示了具有极高或极低 GC 含量的微生物的覆盖度。由于基于磁珠的文库制备化学技术的发展, Illumina DNA Prep 比 Nextera XT 显示出更均一的覆盖度。文库使用 Nextera XT 或 Illumina DNA Prep Kit 制备获得。在 HiSeq™ 2500 系统 (Rapid Run v2, 2×151 bp) 上生成数据。

## 灵活的工作流程适用于多种应用

Illumina DNA Prep 的最大优势在于其灵活支持各种研究领域和应用。该试剂盒支持人类 WGS、癌症基因组学研究、环境元基因组学、传染病研究、农业基因组学等多种研究 (图 6)。无论对大型复杂基因组、小型基因组、质粒、扩增子、革兰氏阳性 / 革兰氏阴性菌、真菌或是一系列植物和动物物种进行测序, Illumina DNA Prep 都能提供全面的基因组覆盖。灵活、用户友好型工作流程适用于不同经验的用户、不同的应用方向和起始样本类型。



图 6: Illumina DNA Prep 的应用范围广泛——从人类 WGS 和大型 / 复杂基因组到小型微生物基因组, Illumina DNA Prep 提供了实验上的灵活性。

## 总结

Illumina DNA Prep Kit 的创新工作流程结合了 DNA 提取、定量、片段化和文库归一化，是因美纳产品组合中最为快速、灵活的工作流程。用户友好且兼容自动化的工作流程支持所有经验级别的用户，并为各种实验设计提供一个通用的工作流程。磁珠固化转座酶片段化技术可支持较宽的 DNA 起始量范围、不同的样本类型以及应用，包括人类 WGS、环境宏基因组学、植物和动物研究、肿瘤分析等等。了解创新的 Illumina DNA Prep 工作流程如何结合因美纳 SBS 测序化学的强大功能推动和加速实现研究目标。

## 了解更多

Illumina DNA Prep,

[illumina.com/products/by-brand/nextera.html](http://illumina.com/products/by-brand/nextera.html)

## 订购信息

产品	货号
Illumina DNA Prep, (M) Tagmentation (24 个样本, IPB)	20060060
Illumina DNA Prep, (M) Tagmentation (96 个样本, IPB)	20060059
Flex Lysis Reagent Kit	20018706
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set A, Tagmentation (96 个标签, 96 个样本)	20091654
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set B, Tagmentation (96 个标签, 96 个样本)	20091656
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set C, Tagmentation (96 个标签, 96 个样本)	20091658
Illumina DNA/RNA UD Indexes Set D, Tagmentation (96 个标签, 96 个样本)	20091660
Nextera DNA CD Indexes (96 个标签, 96 个样本)	20018708

## 参考文献

1. Illumina (2014). [Nextera XT DNA Library Preparation Kit Data Sheet](#). Accessed April 14, 2020.

### Illumina 中国

上海办公室 • 电话 (021) 6032-1066 • 传真 (021) 6090-6279  
 北京办公室 • 电话 (010) 8441-6900 • 传真 (010) 8455-4855  
 技术支持热线 400-066-5835 • [chinasupport@illumina.com](mailto:chinasupport@illumina.com) • [www.illumina.com.cn](http://www.illumina.com.cn)

© 2022 Illumina, Inc. 保留所有权利。所有商标均为因美纳公司或其各自所有者的财产。  
 关于具体的商标信息，请访问 [www.illumina.com.cn/company/legal.html](http://www.illumina.com.cn/company/legal.html)。M-GL-01373 v1.0

仅供研究使用，不得用于诊断。



**illumina**<sup>®</sup>