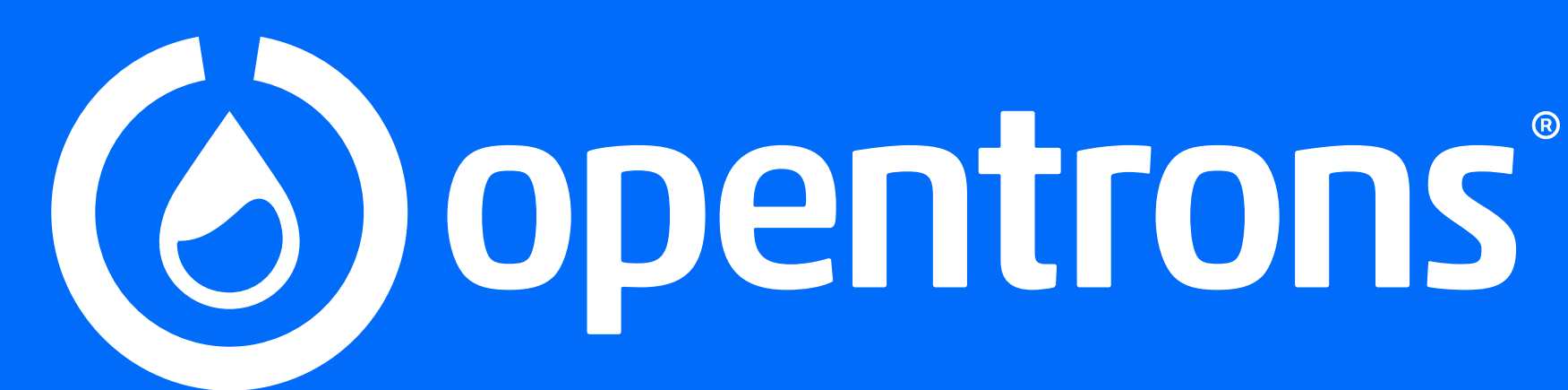


Opentrons Flex 自动化移液工作站 24 小时全程自动化轻松制备高达 384 个质粒文库

D'Andra Howell¹, John Palys², Curtis Knox², Rebecca Feeley², Jenna Couture², and Kinnari Watson PhD¹

1. Opentrons Labworks Inc. 2. seqWell, Inc.



www.opentrons.com.cn

180 9895 2246



简介

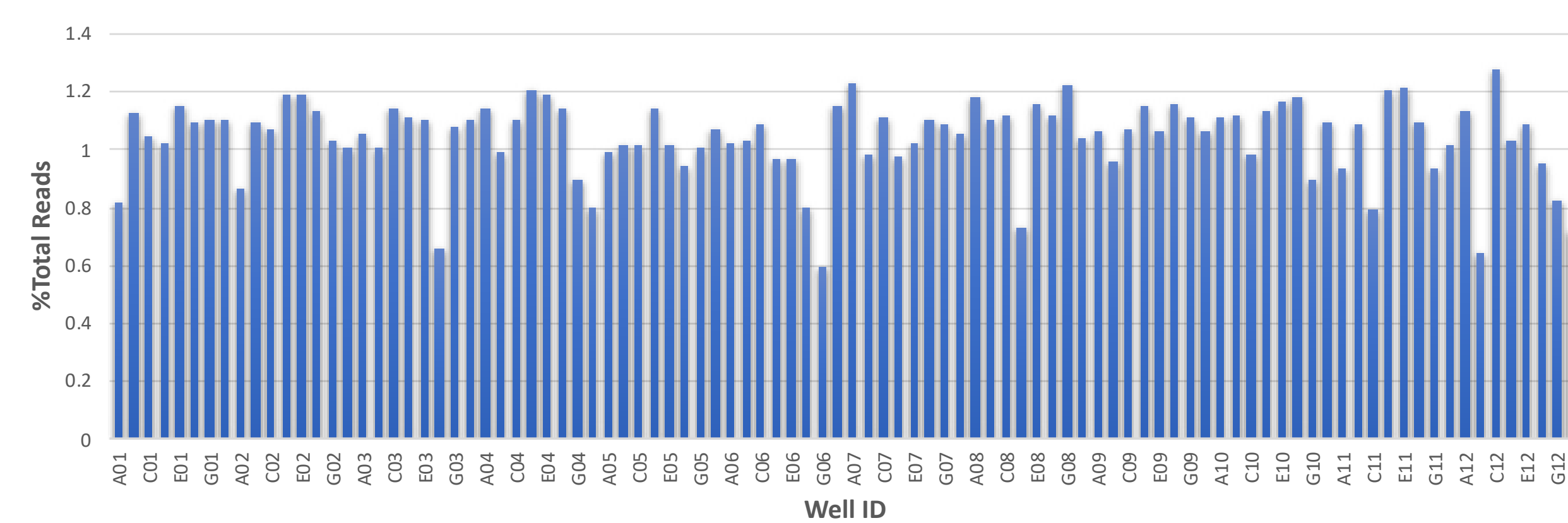
- 高通量基因组分析是生命科学研究中不可或缺的重要工具,这项技术在推动科研进步方面发挥着至关重要的作用。为了满足科研领域对高效、准确制备方法的迫切需求,seqWell 的 Express Plex™ Library Kit 提供了一种专门用于高通量制备质粒和扩增子文库的解决方案。
- 在传统的手工制备文库方法中,完成 96 个样品的制备需要耗费长达 90 分钟的时间,其中手动操作时间占据了 30 分钟。这种方式不仅效率低下,还容易因为人为因素引入误差。
- 为了改进这一状况,本文对比了两种文库制备方法,一种是在 Opentrons Flex™ 移液工作站上使用 seqWell ExpressPlex™ Library Kit,另一种是手工制备文库。
- 通过结合 Flex 移液工作站与 seqWell ExpressPlex™ Library Kit,我们可以显著缩短文库制备时间,提高样本通量。这种自动化的解决方案不仅提升了制备效率,还降低了人为误差的风险,为生命科学研究提供了更为可靠、高效的工具。

材料与方法

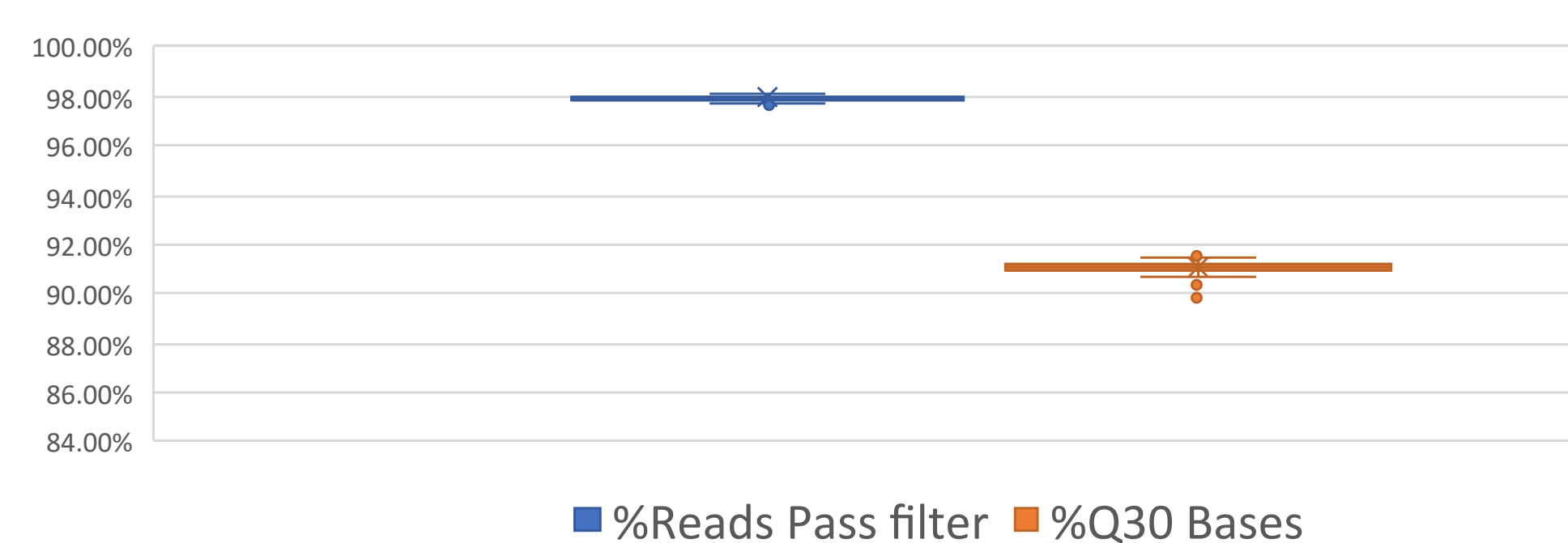
根据 Express Plex 的工作流程,我们在 Flex 自动化移液工作站上进行文库制备。实验过程中,我们输入 16 ng 的 pUC19,再将所有组分加入反应板,用 3000 rpm 的转速混匀 90 秒,然后进行后续的文库制备和混合步骤。最终的文库在 NextSeq 2000 测序仪上进行 2X150 bp 测序。

结果

A) 输入量为 16 ng 的 96 个文库的有效 reads 数



B) Opentrons Flex™ 上使用 ExpressPlex™ Library Prep Kit 制备 96 个文库的测序质控指标数据



文库类型	浓度(ng/ul)	摩尔浓度 (nmol)
Opentrons Flex	114	223
Manual Control	95.8	198

图 2. A) 结果显示 96 孔板中文库数据变异系数(CV)为 12.7%; B) 95% 的文库数据通过了数据预处理,为高质量数据,且超过 90% 文库质量得分达到 Q30; C) 由 Flex 制备的文库比手动制备的文库浓度更高。

A) ExpressPlex 工作流程:

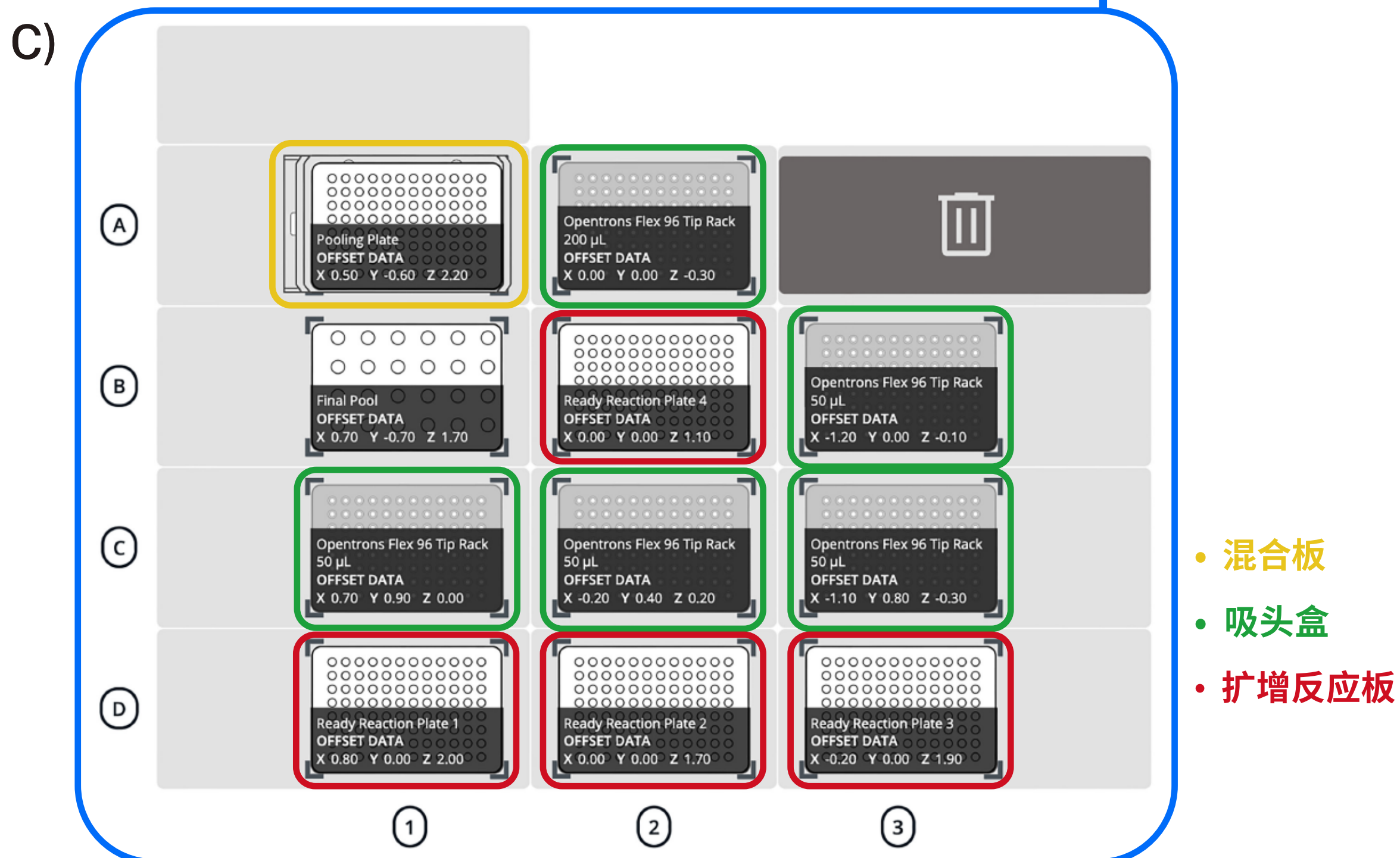
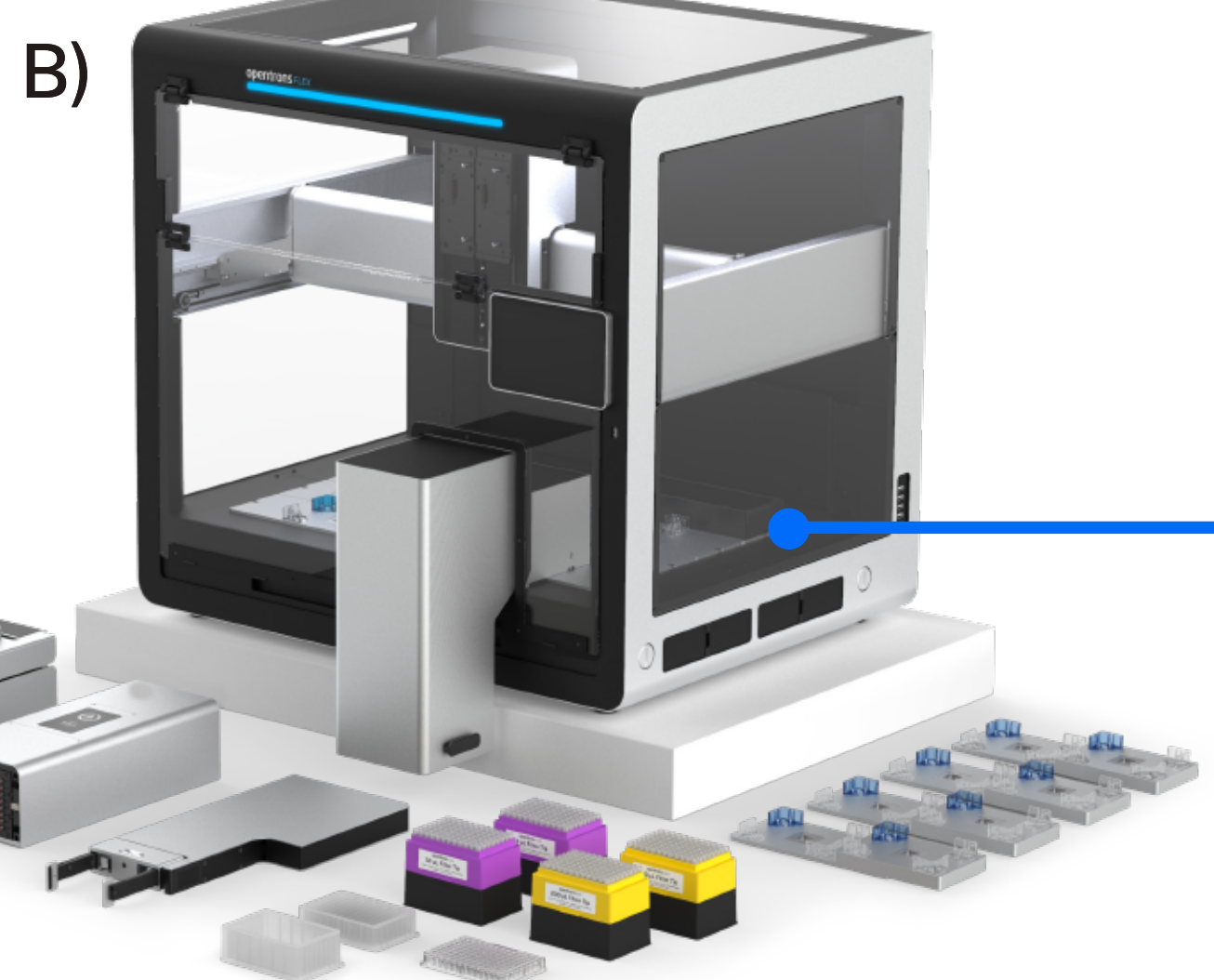
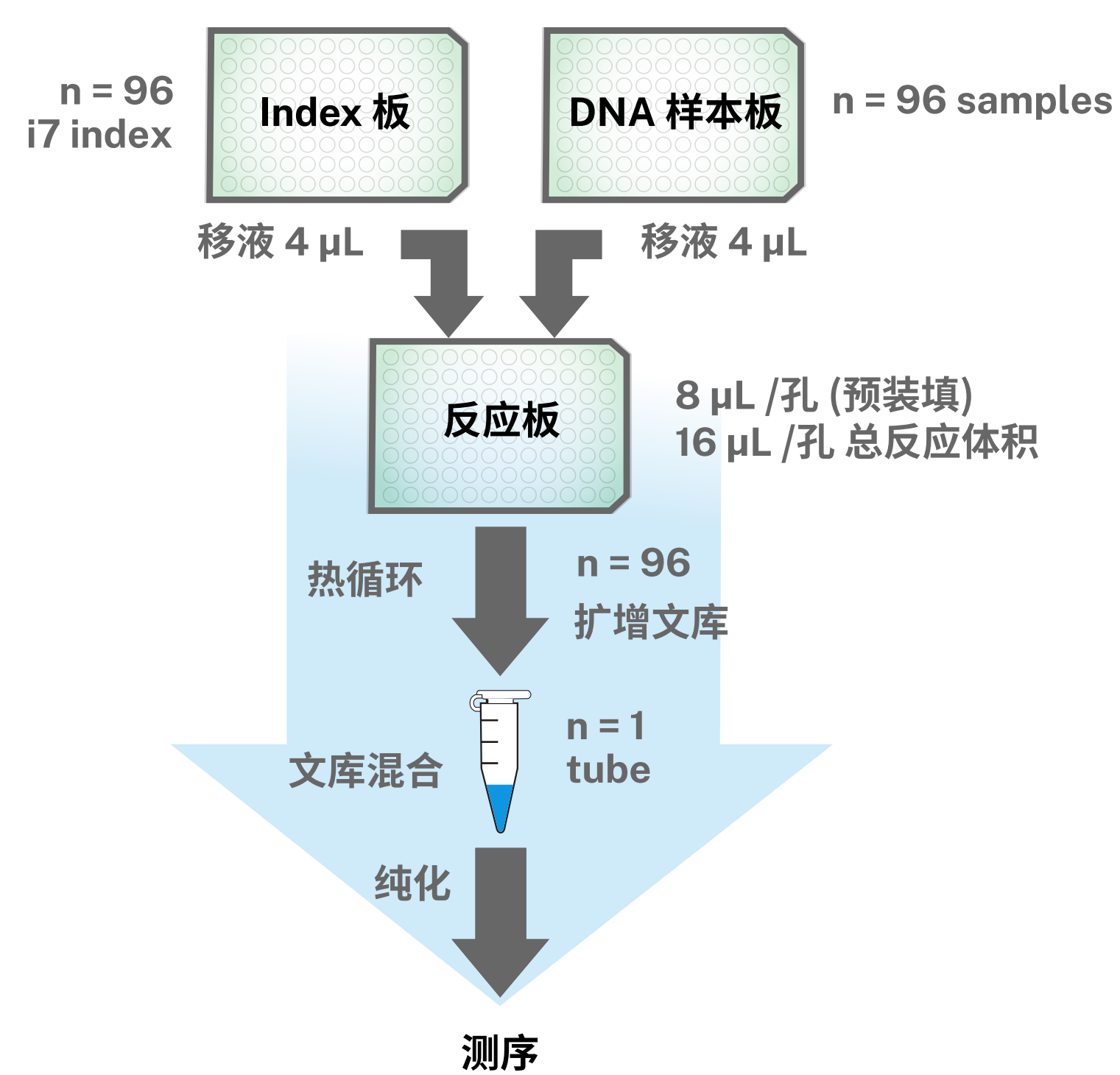


图 1. A) Express Plex 工作流程包括将 index 和 DNA 加入反应板(已含有酶等混合物),然后进行扩增、混合和 MAGwise 磁珠纯化; B) Flex 工作站包括吸头盒、模块、转板抓手和其他配件; C) Flex 工作站板位设置,用于在扩增后将 4 个反应板进行文库混合。

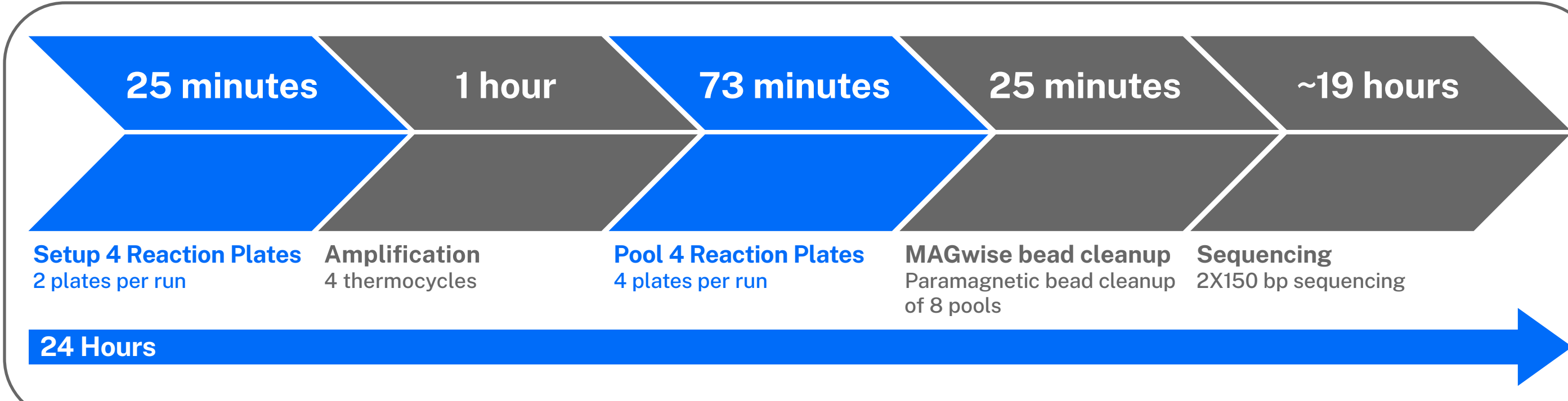


图 3. 利用错开的开始时间,可以在 Opentrons Flex™ 上 3 小时内制备 8 个独立的 96 混 1 文库。在 Flex 上设置第一块反应板后,可以在 24 小时内完成 768 个文库的制备。

结论

- 在 Flex 移液平台上制备的 96 个 pUC19 质粒样本文库呈现出了高度均一的质量,充分证明了 Flex 平台在自动化文库制备方面的卓越性能。
- 与手动制备相比,自动化文库制备不仅稳定性更佳,而且文库浓度更高。此外,超过 95% 的读数成功通过测序仪质检 PF,这进一步验证了自动化制备流程的高效性和准确性。
- Flex 移液工作站支持在单次运行中处理多达 384 个样本,极大地提高了样本处理效率。通过合理安排时间,我们甚至可以在 24 小时内处理高达 768 个样本,从而满足大规模高通量基因组分析的需求。
- 在 Flex 平台上自动化 ExpressPlex™ Library Prep Kit 工作流程,我们实现了从提取的质粒/扩增子 DNA 到数据生成的全流程自动化。这一解决方案不仅简化了操作步骤,降低了人为误差,而且显著提高了实验效率和数据质量,为生命科学研究领域的发展注入了新的动力。

参考文献

- ExpressPlex™ Library Prep Kit Single-Step Workflow Demo for High-Throughput Multiplexed Sample Prep. (2023). YouTube. <https://www.youtube.com/watch?v=gB4IsVH0AIA>
- Leonard, J. T., Feeley, R., Huang, S., Wang, L., & Smith, J. (n.d.). A transformational one-step library preparation method for multiplexed plasmid and amplicon sequencing. Library Prep Simplified through Scalable Workflows | seqWell. https://seqwell.com/wp-content/uploads/2022/06/20220519_ExpressPlex-Poster.pdf
- Leonard, J. T., Huang, S., Feeley, R., Couture, J., Palys, J., Smith, J., & Liu, Y. (n.d.). An Optimal Strategy for Internalizing Ultra-high Throughput Plasmid Sequencing. Library Prep Simplified through Scalable Workflows | seqWell. https://seqwell.com/wp-content/uploads/2023/05/SW2023_Optimal-Strategy-HTP-Sequencing-11x8.5-05192023.pdf
- Palys, J., Pearson, A., Whitmore, I., & Rees, H. (2023). High-Throughput NGS Library Prep for Plasmids and Amplicons with the ExpressPlex™ Library Preparation Kit on the SPT Labtech firefly®.
- SeqWell Inc. (2023). ExpressPlex™ Library Prep Kit. Library Prep Simplified through Scalable Workflows | seqWell. https://seqwell.com/wp-content/uploads/2023/04/SW2023_ExpressPlex-Product-Flyer-04202023.pdf