

Rubicon Genomics 下一代测序 (NGS) 相关制品

高品质的DNA-Seq文库制备试剂

Rubicon Genomics, a member of Takara Bio Group!

★ Rubicon 制品优势!

- ✓ 通过自有的文库制备技术，可以制备高品质的Illumina NGS文库。
→ 相比于其他公司的同类产品，可以获得信赖性和再现性更好的数据。
- ✓ 良好的微量样品对应能力。
→ 1个反应管、3步反应的简单操作。动手操作时间只需要15分钟。
- ✓ 繁琐的磁珠纯化操作只在PCR完成后进行1次。
→ 减少纯化造成的损失，不会浪费珍贵的样品。
- ✓ 同时销售使用分子标签 (UMT) 的试剂盒。
→ 能够明确区分是稀有突变还是测序错误。



★ ThruPLEX®/PicoPLEX®系列产品概要

	特点	Input DNA量※	样品	应用
ThruPLEX® Tag-seq Kit	1,600万以上的分子标签 (UMT) 可以对单个分子进行准确的分析，区别是稀有变异还是测序错误。	1~50 ng	• gDNA • FFPE DNA • Cell-free DNA • ChIP DNA	• 靶向测序 • ChIP-Seq • ctDNA 分析
ThruPLEX® DNA-seq Kit	可用于pg级DNA，应用范围广，是通用性较高的试剂盒。	50 pg~50 ng	• gDNA • FFPE DNA • Cell-free DNA • ChIP DNA • 扩增子	• 全基因组测序 • 全外显子测序 • 靶向测序 • ChIP-Seq
ThruPLEX® Plasma-seq Kit	来源于血浆的游离DNA专用试剂盒，尤其适用于血液中循环肿瘤DNA (ctDNA) 的分析。	1~30 ng	• 血浆来源的游离 DNA	• 全基因组测序 • 全外显子测序 • 靶向测序 • ctDNA分析
PicoPLEX® DNA-seq Kit	可用于单个细胞、或者微量基因组DNA的分析，微量样品的理想试剂。	直接使用1~10个细胞或 6~60 pg DNA	• 真核细胞 • gDNA	• CNV • 染色体异倍性分析

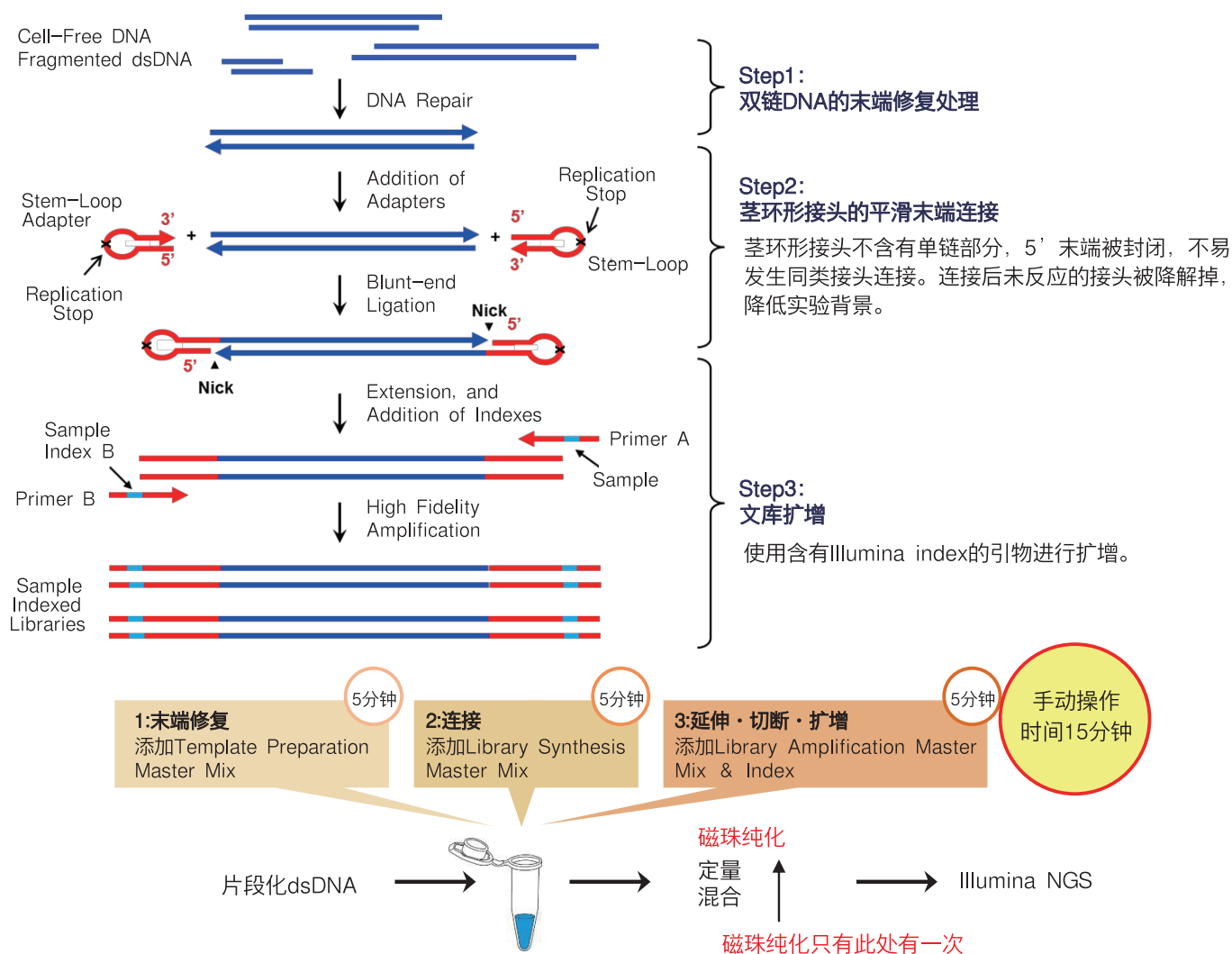
※ 推荐的input DNA量依样品及分析目的不同。详情请参考网页或用户手册。

ThruPlex技术概要

该技术通过使用特别的茎环形接头，仅使用50 pg的微量DNA即可制备NGS文库。

茎环形接头5'端做了封闭设计能够有效抑制二聚体的形成，并且能够提高与目的片段的连接效率，从而制备得到低背景、高品质的文库。

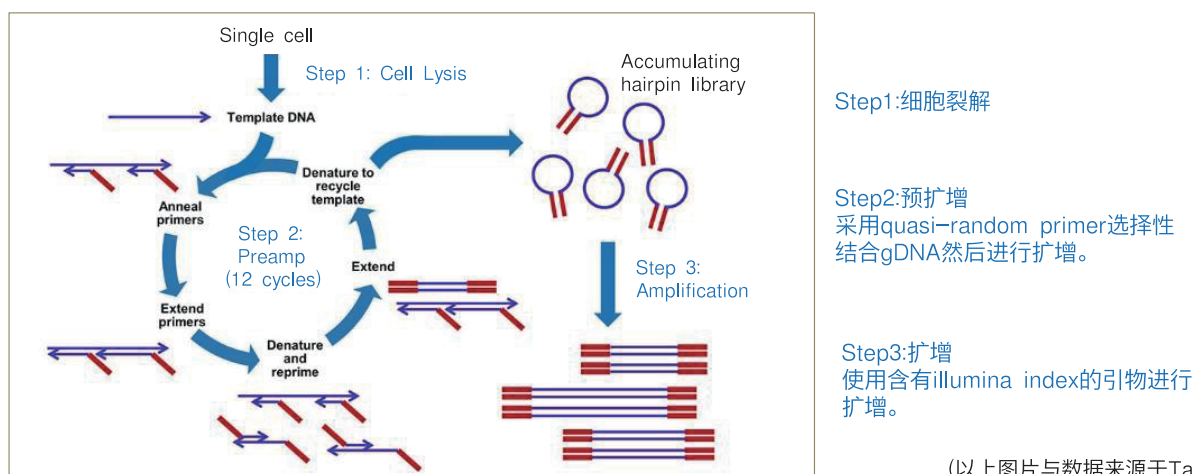
整个实验只需15分钟手动操作且为1个反应管、2个小时、3步反应的简单过程。仅在PCR反应后进行1次磁珠纯化，减少纯化造成的损失，可对珍贵样品进行有效分析。



PicoPLEX技术概要

利用Quasi-random引物引发线性扩增进行全基因组扩增。

相比于以往的PCR、MDA (Multiple Displacement Amplification)、MALBAC (Multiple Annealing and Looping Based Amplification Cycles) 为基础的单细胞全基因组扩增技术，操作简单快速，能够进行再现性良好的扩增。



(以上图片与数据来源于Takara Bio Inc.)

【产品列表】

制品名称	Index		包装量	Code No.
	种类	类型		
ThruPLEX® Tag-seq 6S (12) Kit	6	single	12	RB4584
ThruPLEX® Tag-seq 48S Kit	48	single	48	RB4585
ThruPLEX® Tag-seq 96D Kit	96	dual	96	RB4586

→以上产品，详见4-5页的介绍

ThruPLEX® DNA-seq 6S (12) Kit	6	single	12	RB4523
ThruPLEX® DNA-seq 12S (48) Ki	12	single	48	RB4428
ThruPLEX® DNA-seq 48S Kit	48	single	48	RB4427
ThruPLEX® DNA-seq 48D Kit	48	dual	48	RB4406
ThruPLEX® DNA-seq 96D Kit	96	dual	96	RB4407

→以上产品，详见第6页的介绍

ThruPLEX® Plasma-seq 12S Kit	12	single	12	RB4490
ThruPLEX® Plasma-seq 48S Kit	48	single	48	RB4491
ThruPLEX® Plasma-seq 96D Kit	96	dual	96	RB4492

→以上产品，详见第7页的介绍

PicoPLEX® DNA-seq Kit	48	dual	48	RB3381
-----------------------	----	------	----	--------

→以上产品，详见第8页的介绍

【ThruPLEX系列论文例】

- Matthew W. Snyder, *et al.*,
Cell-free DNA Comprises an In Vivo Nucleosome Footprint that Informs Its Tissues-Of-Origin.
Cell. 2016. **164**(1-2): 57-68.
- Jacob O. Kitzman, *et al.*, Noninvasive Whole-Genome Sequencing of a Human Fetus.
Sci Transl Med. 2012 Jun 6; **4**(137): 137ra76.

【关联制品】如果利用qPCR或array对单细胞进行分析，推荐您使用以下DNA扩增试剂！

制品名称	概要	包装量	Code No.
PicoPLEX® WGA Kit	Array、qPCR分析用单细胞基因组扩增试剂盒	50 次	RB3050

特点

- ✓ 单细胞或6 pg基因组DNA起始的全基因组DNA扩增试剂盒。
- ✓ 单个反应管、3小时，3步反应的简单操作流程（手动操作时间只需要15分钟）。
- ✓ 适合拷贝数变异分析（CNV）、染色体异倍性（aneuploidy）分析。

使用分子标签（UMT）可以对单个分子进行准确分析

ThruPLEX® Tag-seq Kit

DNA加样量	样品	应用
1 ~ 50 ng	gDNA、FFPE DNA、 Cell-free DNA、 ChIP DNA	- 靶向测序 - ChIP-Seq - ctDNA分析

- ✓ 采用含有1,600万以上分子标签（Unique Molecular Tags, UMT）的接头
 - 能够准确区分测序错误和低频变异，检出真正的变异
 - 可以准确的区分PCR duplicate
- ✓ 可与基于杂交的靶标富集系统（※1）组合使用
- ✓ 1个反应管、2小时、3步操作的简单操作过程（手动操作时间只需要15分钟）
- ✓ 使用基于云计算的软件Curio(Curio Genomics)、Connor(GitHub)开放软件可以快速进行UMT分析

※1: Agilent SureSelect、Roche NimbleGen SeqCap EZ、IDT xGen等使用时需要使用Blocking Oligo等。

ThruPLEX Tag-seq的文库结构：96种dual index 图示（※2）

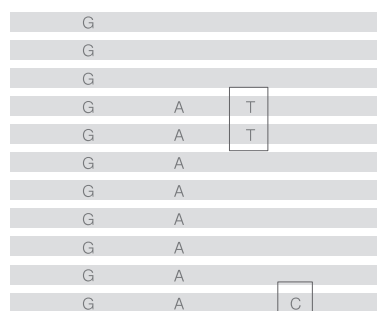
在插入DNA两端分别加入4,096种（4⁶）UMT，总计能够提供1,600万以上（4,096 × 4,096）的UMT。



※2: 6种，48种single index时，没有P5侧index序列。

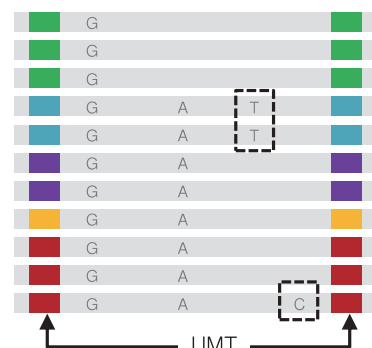
分子标签（UMT）的效果

不含UMT时



不含UMT时，很难区分[T]、[C]是测序错误还是低频变异。
相同read可能是PCR duplicate?

含UMT时



各个DNA分子添加特有的UMT后，进行PCR扩增。由于含有相同UMT的Read来自于相同的DNA分子，能够判断[T]是低频变异、[C]是测序错误。

使用UMT能够准确区分是测序错误还是样品本身的变异。

数据分析例：



测序后的FASTQ文件使用网络软件比对分析后，经Conner分析UMT。然后，使用变异检出软件分析。经确认可以与Conner软件兼容的Alignment软件包括BWA，Bowtie2等。

（以上图片与数据来源于Takara Bio Inc.）

■ 使用UMT高效检出低频变异

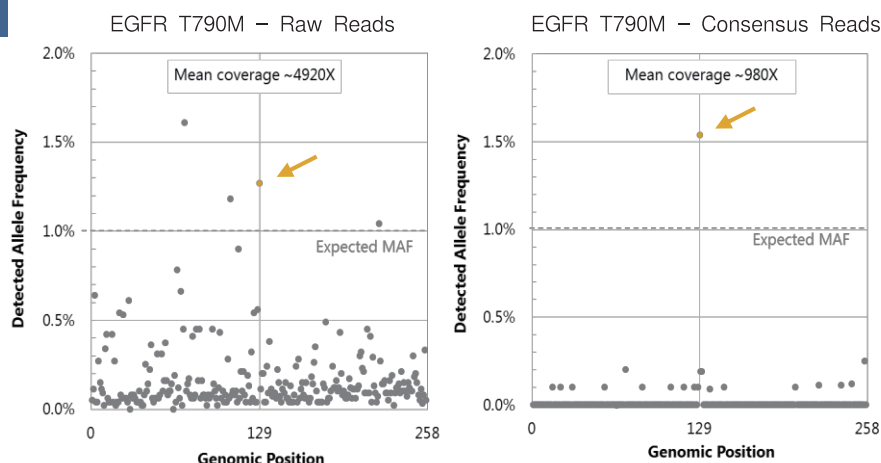
A

*Not detected **100% wild type negative control

DNA Input	Enrichment	Sequencing	Sample MAF	Detected Variant Frequency						Sensitivity	Specificity
				EGFR L858R	EGFR T790M	KRAS G12D	NRAS A59T	NRAS Q61K	PIK3CA E545K		
30 ng	110 kb panel, Agilent SureSelect	~1000X mean unique coverage, NextSeq 500	5%	3.7%	5.7%	6.1%	4.4%	5.9%	5.6%	100.0%	99.8%
			1%	0.5%	1.4%	1.5%	1.7%	1.2%	1.0%	100.0%	99.9%
			WT**	0%*	0%*	0%*	0%*	0%*	0%*		
10 ng	240 kb panel, Roche NimbleGen	~500X mean unique coverage, HiSeq 2500	2.5%	2.3%	1.0%	2.5%	3.6%	2.3%	1.6%	100.0%	99.6%
			1%	1.4%	0.6%	1.3%	0.9%	0.4%	1.7%	100.0%	99.8%
			0.5%	1.4%	0.2%	0.9%	0.8%	1.3%	1.1%	100.0%	99.8%

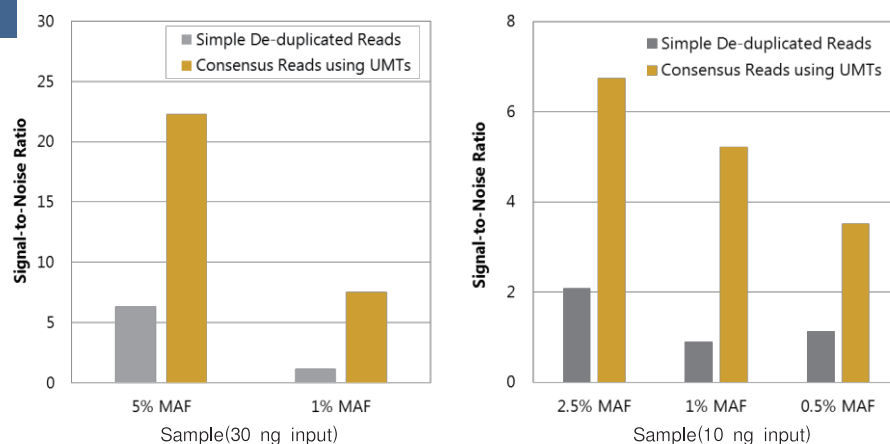
分别以10 ng及30 ng的cfDNA标准样品（Horizon Diagnostics）起始，使用ThruPLEX Tag-seq kit制备文库。然后使用Agilent SureSelect靶向序列富集系统定制Panel（110 KB），或Roche的NimbleGen SeqCap EZ定制Panel（240 KB）进行富集，使用illumina的NGS平台进行测序。得到的数据使用Curio（Curio Genomics）分析。使用Agilent（30 ng DNA Input）或Roche（10 ng DNA input）两者中的任意一个靶向富集系统时，可以得到与已知的MAF(Minor Allele Frequency)同等的结果。

B



使用本Kit对30 ng 含1% cfDNA的标准样品进行文库制备。经Agilent靶向序列富集系统浓缩后，进行NGS分析，对EGFR T790M的等位基因进行检测。未使用UMT的Raw Read，假阳性背景很高，EGFR变异（黄点）不能明显区分，使用UMT时假阳性低且能够明显区分变异。

C



使用本Kit分别对30 ng和10 ng的cfDNA标准样品进行文库制备。经Agilent或Roche靶向序列富集系统浓缩后，进行NGS分析。通过使用UMT，各样品的S/N比提高，可以高可信度的检出变异。

（以上图片与数据来源于Takara Bio Inc.）

使用UMT进行分析时，大幅提高了结果的可信度！

用户心声

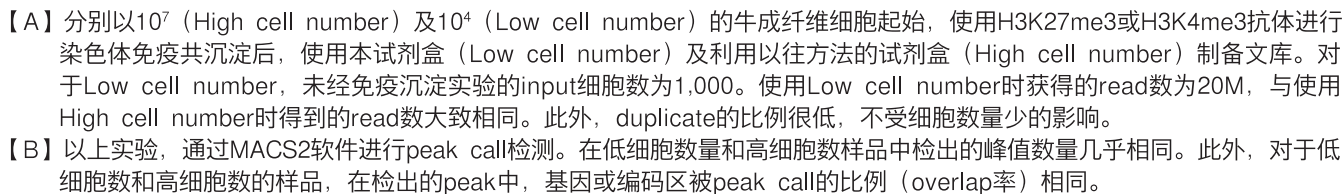
ThruPLEX Tag-seq是一款操作简单的试剂盒。通过分子标签（UMT）的使用，可以减少假阳性变异的读取，从而准确的检出真正的低频变异。

– Jinglan Zhang, PhD, Technical Director for NGS, Baylor Miraca Genetics Laboratories

ThruPLEX® DNA-seq Kit

- ✓ 可与以杂交为基础的靶序列富集系统组合使用。
- ✓ 1个反应管、2小时、3步反应的简单操作（手动操作只需要15分钟）。
- ✓ 使用范围广泛的标准DNA-Seq文库制备试剂盒。

■ 少量细胞起始的ChIP-Seq分析



■ 与同类产品的比较



相比于其他公司的同类产品，使用本试剂盒可以制备高品质的文库！

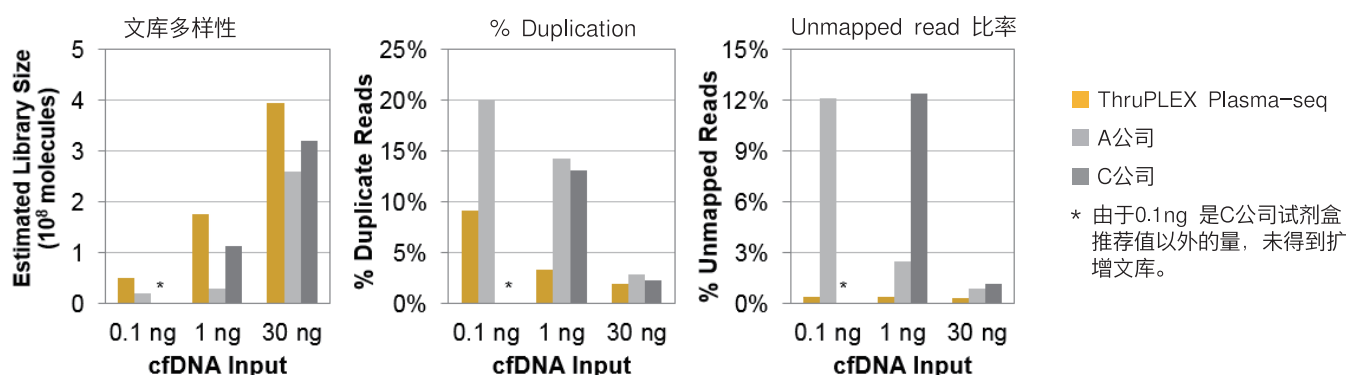
ThruPLEX® Plasma-seq Kit

Input量	样品	应用
1 ~ 30 ng	血浆来源游离DNA	- 全基因组测序 - 全外显子测序 - 靶向测序 - ctDNA分析

- ✓ 可与以杂交为基础的靶序列富集系统组合使用。
- ✓ 1个反应管、2小时、3步反应的简单操作（手动操作只需要15分钟）。

※1：使用Agilent SureSelect、Roche NimbleGen SeqCap EZ、IDT xGen等时需要使用blocking Oligo等。

与同类试剂盒的比较

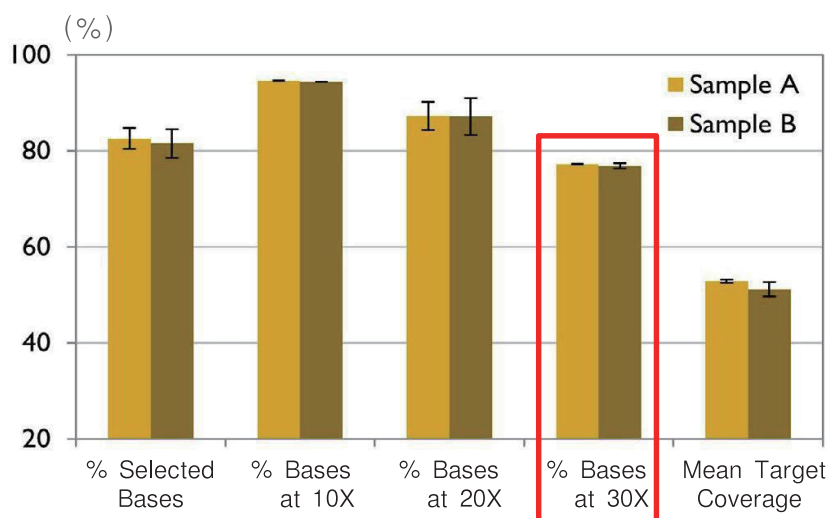


针对0.1 ng、1 ng、30 ng的cell-free DNA，使用本试剂盒、A公司试剂盒和C公司试剂盒制备文库。每个样品得到约17–25 M read(PE)，重复read比例以每个样品17M计算。

与其他公司试剂盒相比，针对不同input量，使用本试剂盒制备的文库相比于其他公司试剂盒制备的文库，本试剂盒制备的文库的多样性（左图）是最高的，重复read的比例（中间图）、unmapped read的比例（右图）较其他公司低。通过使用本试剂盒，input量很低时也可制备得到高品质的文库。

微量cfDNA起始时，与其他公司同类试剂盒相比使用本试剂盒可以得到高品质的文库。

靶向测序 (Kinome Panel) 分析



分别以6.5 ng和10 ng的cfDNA起始，使用本试剂盒制备文库。经SureSelect 系列 (Agilent) 的ClearSeq DNA Kinome XT2浓缩后进行NGS分析，每个样品约获得5M read。在30x覆盖度时，平均77%的碱基被覆盖。

微量cfDNA起始也可以进行靶向测序分析。

(以上图片与数据来源于Takara Bio Inc.)

用户心声

ThruPLEX Plasma-seq是一款简单且使用方便的试剂盒。尤其是磁珠纯化操作非常少。即使我们使用1ng的input量也可以成功制备文库。

– Dr. Charlie Massie, University of Cambridge

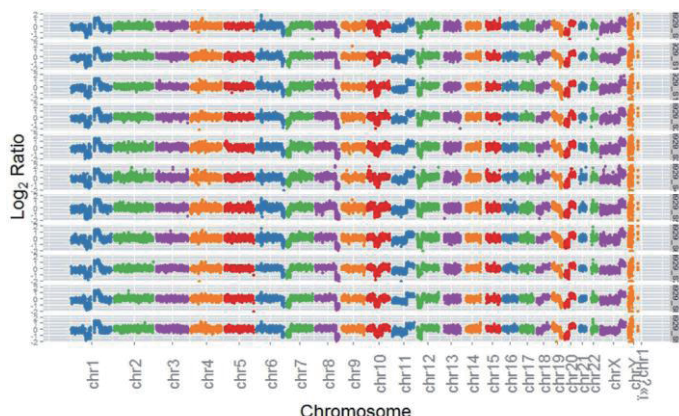
可以单细胞起始构建高再现性的全基因组文库

PicoPLEX® DNA-seq Kit

Input量	样品	应用
1 ~ 10细胞 or 6 ~ 60 pg	真核细胞、gDNA	• CNV • 染色体异倍性分析

- ✓ 单个反应管、3小时、3步反应的简单操作（手动操作时间仅需15分钟）。
- ✓ 适用于拷贝数变异（CNV），染色体异倍性分析。

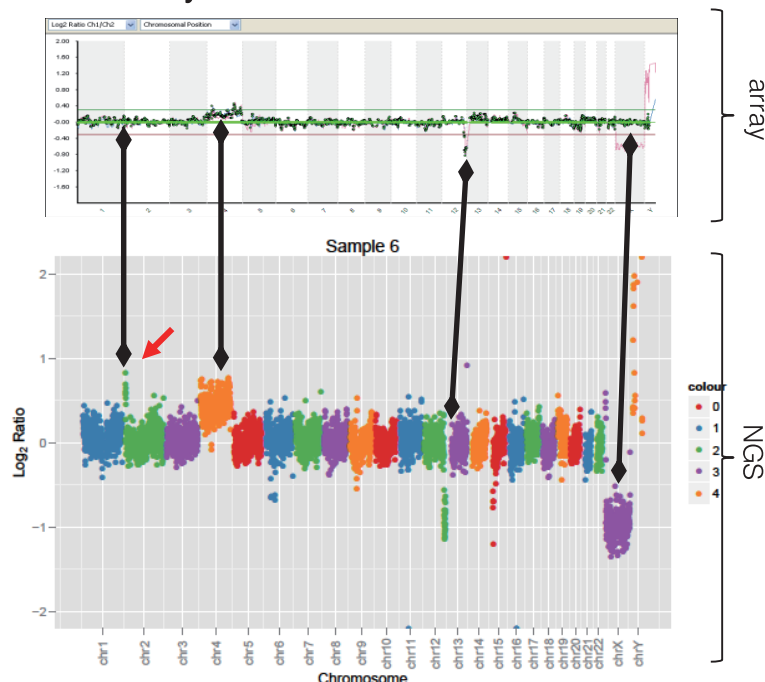
■ 染色体异倍性分析的重复性



经流式细胞仪分选出11个不同步的H929细胞，使用本试剂盒制备文库后，经MiSeq测序。将获得的35 bp single reads比对到人类基因组，对总计250,000 reads进行了分析。

比对到整个基因组后，各细胞得到的结果相同，显示了很高的重现性。

■ 与Array分析的比较验证



使用同一胚胎单细胞库分别进行array和NGS分析，确认本制品和24 sure array (illumina) 两者的等效性。NGS的结果与array的结果一致。

另外，2号染色体使用array分析是正常的，使用NGS重复检测后，可以得到比array更准确的结果（红色箭头）。

（以上数据来源于Genetics & IVF Institute）

用户心声

使用PicoPLEX DNA-Seq Kit构建胚胎单细胞文库进行NGS分析，检测到两个小的不平衡区域。这两个区域，与采用母体血液样本进行高分辨率FISH法分析的结果一致。该血液样本最初被认为是正常的。这是使用microarray未检出染色体隐匿易位而使用NGS能够检出的重要实例之一。

—Brian Mariani, PhD, Chief Scientist, Scientific Director, Genetics & IVF Institute

- 本宣传页上登载的制品，都是以科研为目的。请不要用于其它方面，如：不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经本公司许可，严禁产品的转售、转让、以转售、转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可及注册商标信息请在本公司网站上确认：<http://www.takarabiomed.com.cn/>。
- 本宣传页上登载的公司名称及制品名称即使没有特殊标注，使用的也是各公司的商标或注册商标。

宝日医生物技术（北京）有限公司
Takara Biomedical Technology (Beijing) Co.,Ltd.

技术咨询电话：4006518761 4006518769
E-mail: service@takarabiomed.com.cn

Ver.1 2017年5月印刷 5K



www.takarabiomed.com.cn