



Gene Company Limited

基因有限公司

A Gene Group Company

从核酸提取到文库构建——

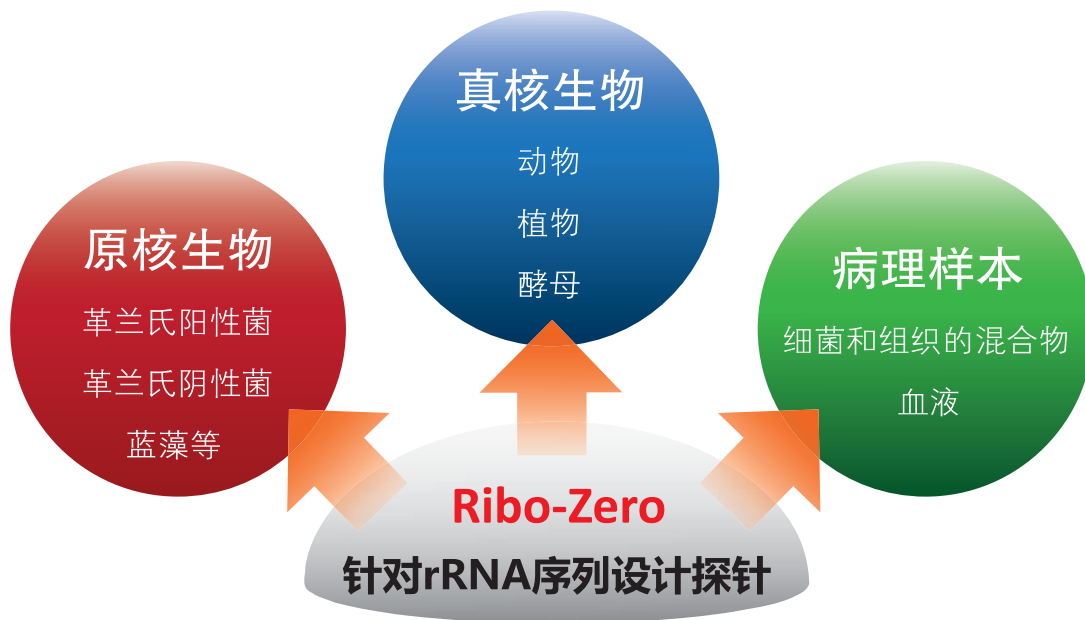
最佳的二代测序样本制备方案

RNA Sequencing 中最关键的一步——mRNA富集!

去除rRNA程度更高=减少数据分析中无关的信息=更高效更低成本!

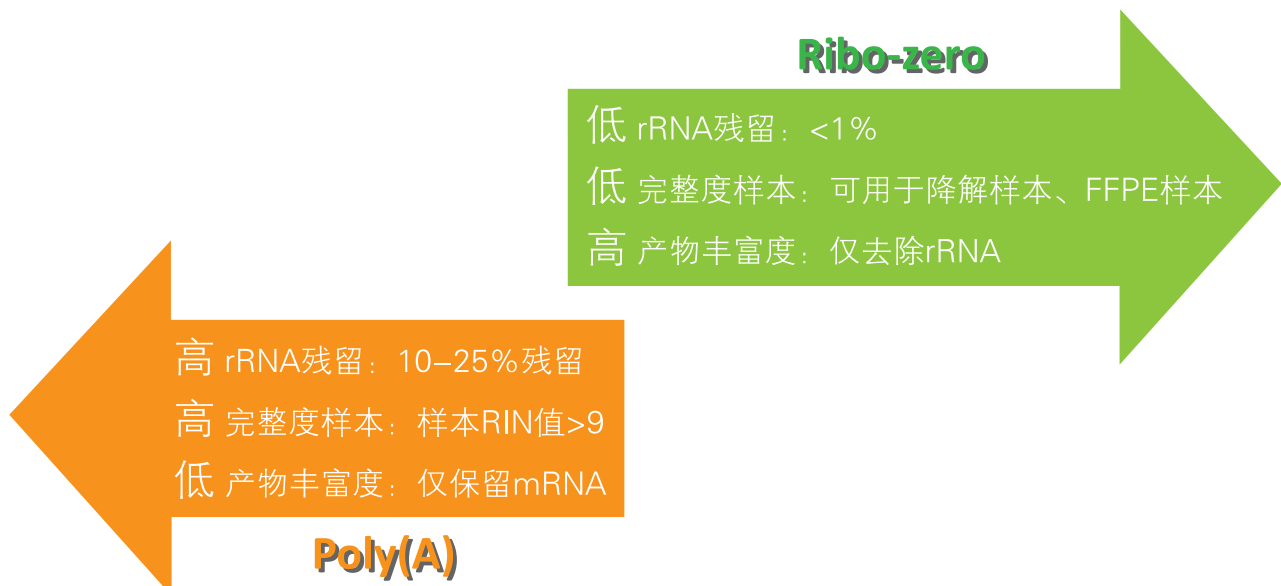
最新、最简便、最有效的rRNA去除方法、仅在Epicentre!

- rRNA去除率达到**99%**以上!
- 全线产品均为磁珠法操作，**90分钟**即可完成!
- 只要**500ng**起始样本即可进行实验!
- 经验证，适用于22种动物(FFPE样品可用!)、32种原核生物和11种植物!

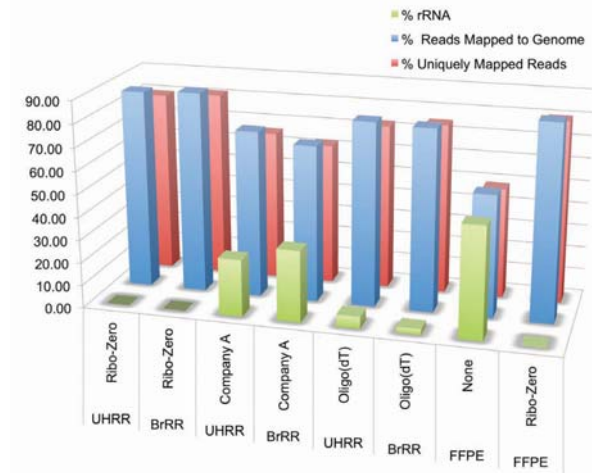


Ribo-Zero, 不止针对原核生物!

真核生物mRNA具有polyA结构，但用oligo(dT)法真的是最佳选择吗?



Ribo-Zero, mRNA富集产品中的佼佼者!



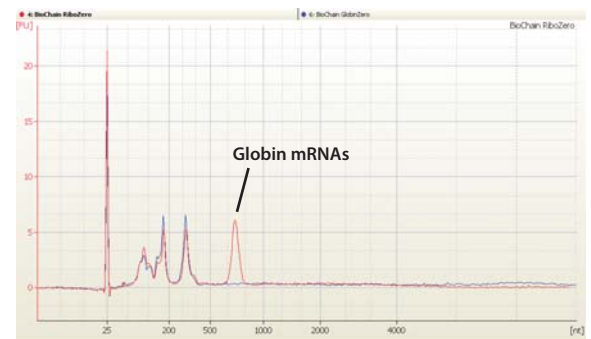
对三种样本：人RNA、人脑RNA、FFPE RNA分别使用不同产品进行mRNA富集。比较结果表明，相对于A厂产品和Oligo(dT)方法，EPI产品处理过的样本，得到的rRNA reads远低于A厂产品和poly(A)，而mapped reads及UMR更高！

即使针对FFPE RNA，EPI产品也表现出优秀的性能。

Globin-Zero——去除血液样本中球蛋白mRNA及rRNA!

- ✓ 适用于人、大小鼠等哺乳动物血液RNA；并且适用于部分降解样本
- ✓ 去除成熟球蛋白mRNA、线粒体及细胞质rRNA，如下表：

去除球蛋白mRNA		去除细胞质rRNA	去除线粒体rRNA
Hba-a1	Hbg2 (human)	28S	16S
Hba-a2	Hbb-b1 (mouse)	18S	12S
Hbb	Hbb-b2 (mouse)	5.8S	
Hbg1 (human)		5S	



使用R-Z Gold(红色)和G-Z(蓝色)分别对血液RNA进行处理后对产物进行分析。表明经G-Z处理，可移除全部的球蛋白mRNA!

Ribo-Zero 家族系列产品总览

各产品具体适用物种，请询问销售代表

RNA Sample	Kit	移除细胞质rRNA	移除线粒体rRNA	移除细菌rRNA	移除叶绿体rRNA	移除球蛋白mRNA
人和其他动物RNA、FFPE RNA	Ribo-Zero™ Magnetic Kit (Human/Mouse/Rat)	✓				
人和其他动物RNA、FFPE RNA	Ribo-Zero™ Magnetic Gold Kit (Human/Mouse/Rat)	✓	✓			
病理样本(宿主及细菌的混合物)	Ribo-Zero™ Magnetic Gold Kit (Epidemiology)	✓	✓	✓		
细菌	Ribo-Zero™ Magnetic Kit (Bacteria)			✓		
革兰氏阴性菌	Ribo-Zero™ Magnetic Kit (Gram-Negative Bacteria)			✓		
革兰氏阳性菌	Ribo-Zero™ Magnetic Kit (Gram-Positive Bacteria)			✓		
植物叶片组织	Ribo-Zero™ Magnetic Kit (Plant Leaf)	✓	✓		✓	
植物叶根、种子	Ribo-Zero™ Magnetic Kit (Plant Seed/Root)	✓	✓		✓	
哺乳动物血液 RNA	Globin-Zero™ Gold Kit	✓	✓			✓

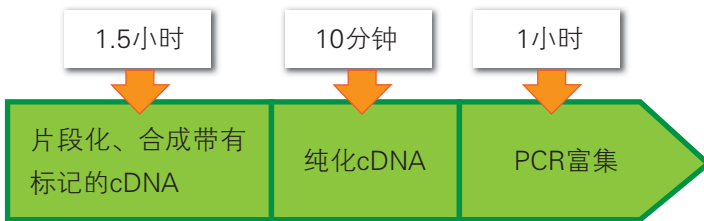
质量卓越的RNA建库系列——illumina旗下王牌产品

2011年1月初Illumina宣布收购了 Epicentre 生物技术公司，Illumina表示，收购的核心部分是 **Epicentre专利的Nextera™技术**，它适用于新一代测序的文库制备。Epicentre出产多种RNA测序产品，包括mRNA和small RNA -Seq Library Preparation Kit，及将rRNA去除产品与文库构建产品整合起来的ScriptSeq™ Complete 系列产品。

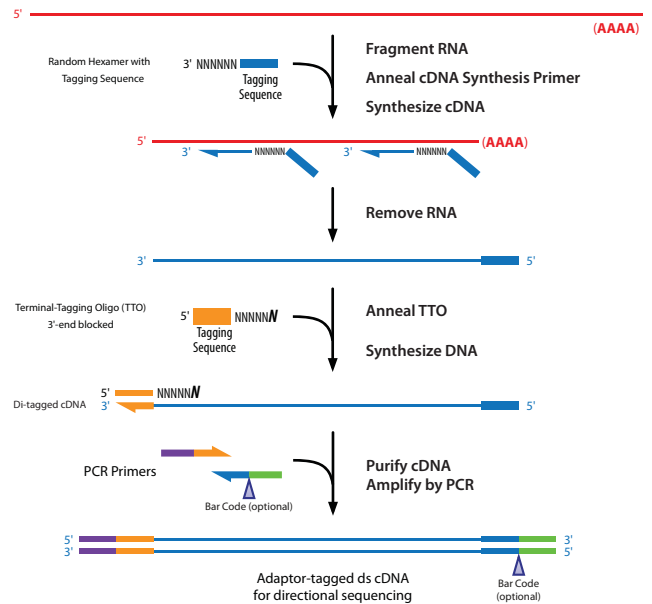
ScriptSeq™ v2 RNA-Seq Library Preparation Kit

- ✓ 仅需要500 pg 的不含rRNA的 RNA或mRNA
- ✓ 3小时 即可完成文库构建
- ✓ 能够从完整的、降解的、以及FFPE样本的RNA中制作出文库
- ✓ 产生的文库适用于illumina TruSeq™ Cluster kits和测序引物

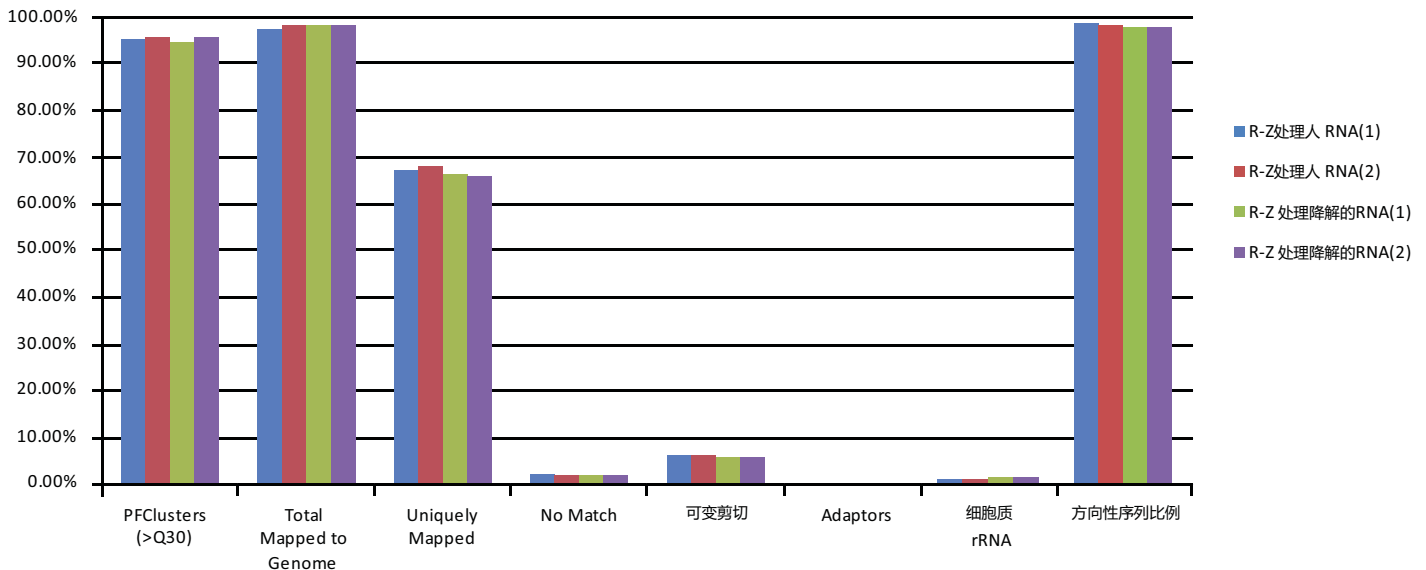
三步完成文库构建



Cluster-ready libraries!



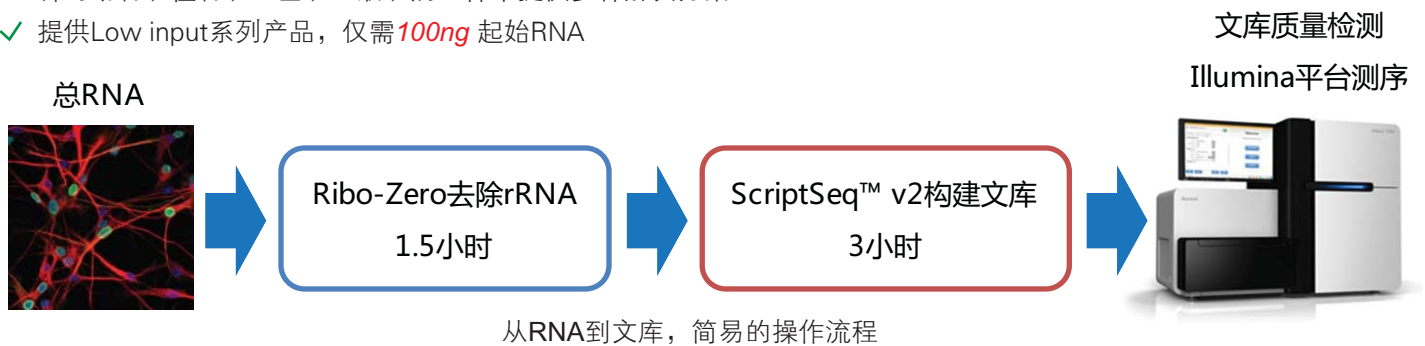
高质量，高方向性，低rRNA



将人RNA和降解的RNA样本，经Ribo-Zero (H/M/R) Kit 处理后，使用ScriptSeq™ v2 RNA-Seq Library Preparation Kit构建文库，经GA IIx测序。其中高质量reads占96%以上，方向性序列比例为98%以上，而细胞质rRNA比例为小于0.9%

ScriptSeq™ Complete Kit 系列

- ✓ 从rRNA去除到RNA文库构建，一次性解决
- ✓ 针对动物、植物、细菌、血液、病理样本提供多种解决方案
- ✓ 提供Low input系列产品，仅需100ng 起始RNA

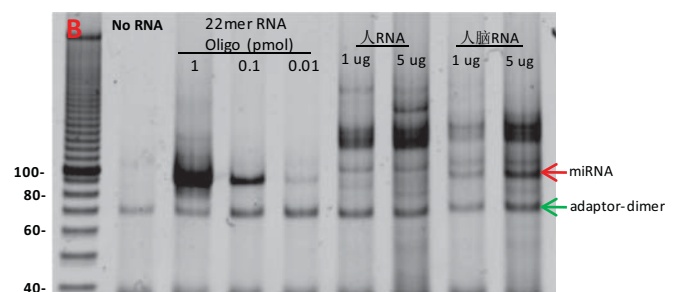
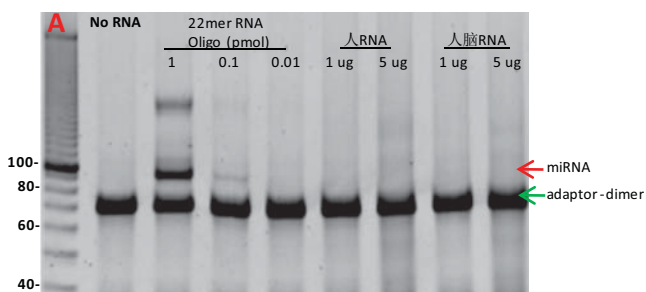


ScriptMiner™ Small RNA-Seq Library Preparation Kit

- ✓ 显著地降低产物中adapter dimers水平
- ✓ 样本量：总RNA (1–5 µg)或片段选择过的RNA (100 pg)
- ✓ 用于illumina TruSeq™ Cluster kits，及GAII、HiSeq平台
- ✓ 一天即可完成方向性文库制备
- ✓ 配有烟草酸焦磷酸酶，有效捕获small 5'-capped RNA 和small 5'-triphosphorylated RNA，如下表：

样本类型	是否用TAP处理	Reads passing filter	Reads aligned to hg19	% reads aligned
人脑RNA	TAP	1,384,314	1,380,799	99.75%
人脑RNA	No TAP	712,841	711,926	99.87%
HeLa细胞RNA	TAP	1,560,105	1,555,406	99.70%
HeLa细胞RNA	No TAP	662,365	661,362	99.85%

TAP 处理可以有效捕获全部的small-RNA 转录组。未处理的文库仅捕捉到5'-monophosphorylated RNA，而TAP处理过的文库产生的数据量为其两倍。

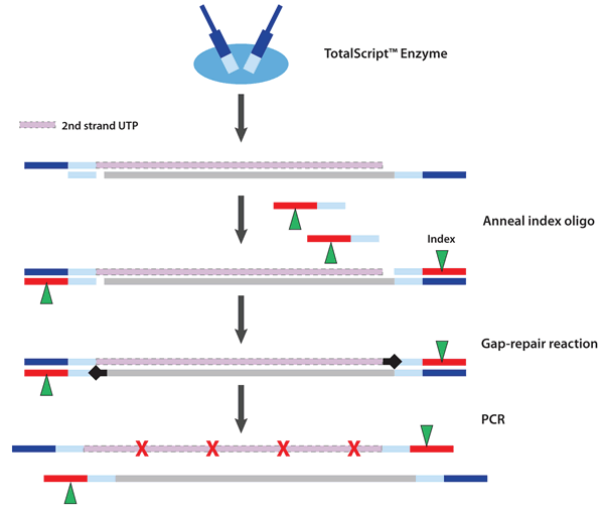
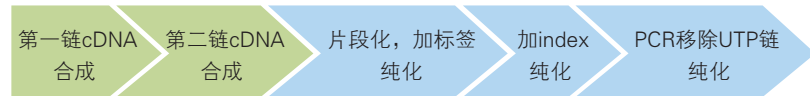


用两种方法构建small RNA文库，A为常规方法，B为ScriptMiner，使用22mer RNA和空白样本作为对照，其中加入的adaptor为70个碱基。通过A和B两图的比对，明显可见B图中miRNA量(90bp)明显多于A图，而adaptor-dimer量远远低于A图。

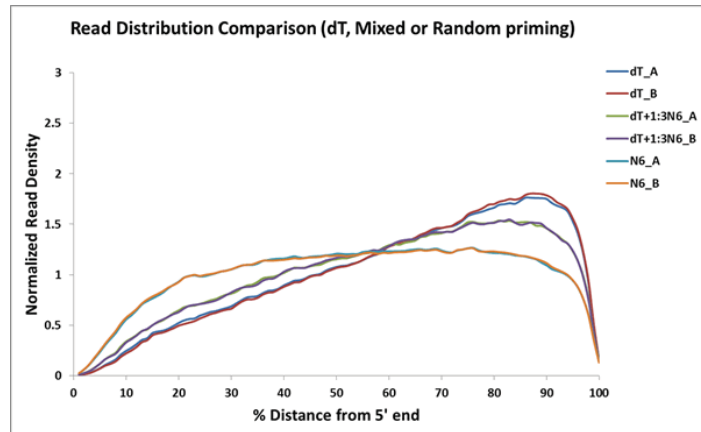
TotalScript™ RNA-Seq Kit

- ✓ 适用于高质量真核生物RNA样本(RIN>7)
- ✓ 使用总RNA样本——无需纯化mRNA，无需去除rRNA
- ✓ 仅需1–5ng总RNA
- ✓ 一天(操作时间5小时)即可完成方向性文库制备
- ✓ 提供三种引物完成cDNA合成

简单明晰的操作流程



使用不同的引物，得到不同的数据



使用不同引物的综合比较

Method	Total RNA Input	% rRNA	Coverage
Random Priming	1-5 ng	<40%	Even
Mixed Priming	1-5 ng	<25%	Slight 3' Bias
dT Priming	1-5 ng	<5%	3' Bias

样本为5ng人RNA，分别使用三种不同的引物：Random Primer (左图N6)、Oligo(dT) (左图dT)和两者混合物(左图dT+N6)来完成cDNA合成，随后构建文库并测序。

由结果可见，使用不同的引物，得到数据偏向性不同。

ARTseq™ Ribosome Profiling Kits

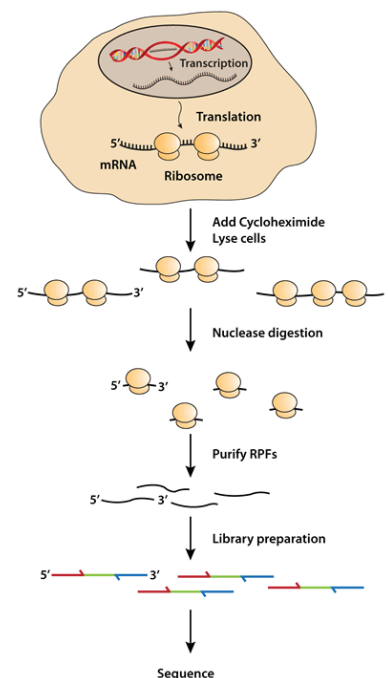
核糖体图谱技术是一种新型的转录调控研究方法。基于对核糖体保护的mRNA片段进行深度测序，可对核糖体在体内的特定时刻的活动进行捕捉，推断出何种蛋白质在细胞内被翻译。即从基因组水平监测蛋白质的翻译状况。

- ✓ 适用于哺乳动物和酵母样本
- ✓ 适用于illumina测序平台，kit内含12种Index Primer



图左：对测序数据分布进行比较。经过SEC或蔗糖梯度离心方法处理再构建文库，所得数据中，ORF数据量得到了提升，而UTR区数据量减少；而总mRNA测序数据分布则非常均一。

ARTseq测序流程



除了原厂试剂以外，难道别无选择？

高质量&低成本！我们给您更多选择！

用于新一代测序的NEBNext试剂

NEBNext系列试剂是一系列高纯度的试剂，适用于新一代测序技术的样品制备和表达文库的构建。确保产量高、性价比高，使复杂、繁琐的样品准备过程简单化和标准化。

- ✓ 形式灵活，提供master mix、reagent set、Module三种产品形式
- ✓ 利用独立的第三方新一代测序平台进行验证
- ✓ 适用平台：适用于 Illumina、Roche/454、SOLiD 和 Ion Torrent 测序平台。
- ✓ 产品种类：DNA文库、Chip-Seq、mRNA文库、small RNA 文库、primer set等

NEB文库制备——模块产品一览

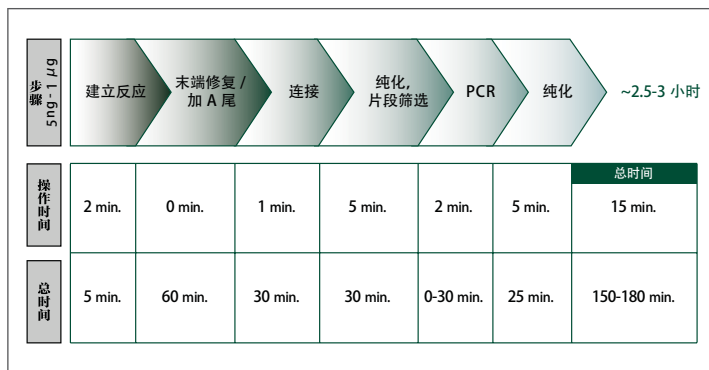
NEB除了一体化的文库构建试剂盒之外，还特别提供单独的功能模块试剂，使您的使用更灵活，满足不同研究者的使用习惯。

样本类型	模块类型	适用平台			
		illumina®	Roche/454™	SOLiD™	Ion Torrent™
DNA	DNA 片段化	√	√	√	
	末端修复	√	√	√	√
	加A尾	√			√
	连接	√	√	√	√
	扩增	√			
	连接头多样本	√			
	连接头单样本	√			
	筛选		√		
CHIP	末端修复	√		√	
	加A尾	√		√	
	连接	√		√	
	扩增	√			
mRNA	RNA片段化	√	√	√	
		√	√	√	
	第二链合成	√	√	√	
	末端修复	√		√	
	加A尾	√			
	连接	√		√	
	扩增	√			
	连接头多样本	√			
	连接头单样本	√			
small RNA	预腺苷化	√		√	

NEB最新文库构建产品NEB Next® Ultra系列，在灵敏度提升的同时，缩短了反应流程——不仅适用于超微量起始样本，经优化反应，更可省去了两步纯化步骤。

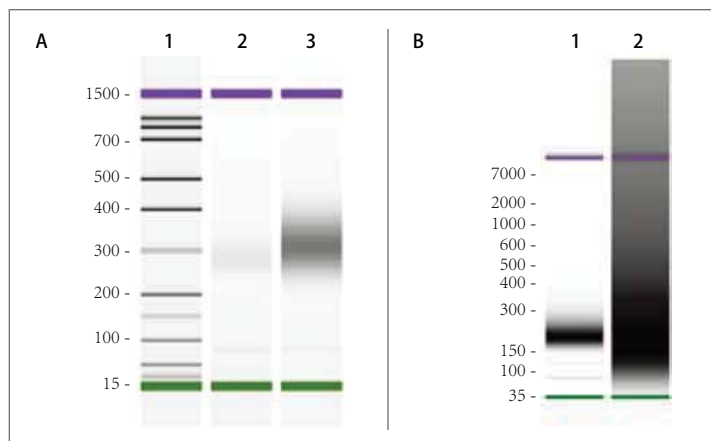
Ultra DNA 文库制备试剂盒优势

- ✓ 宽范围的起始量：5 ng – 1 μg
- ✓ 流程简便、快捷
- ✓ 稳定性、保真性高
- ✓ 超保真扩增，无 GC 偏嗜性
- ✓ 功能验证 – 每一个试剂盒均经基因组DNA文库制备，Illumina测序仪验证。
- ✓ 严格的质量控制 – 完整的质检体系确保最高质量和纯度。
- ✓ 构建的 DNA 文库适用于 Illumina公司所有测序仪



Ultra DNA 文库制备流程

针对低起始量和复杂样本，Next Ultra 仍可制备高质量的文库



所有文库的起始 DNA 量均为 5 ng，并用 Agilent Bioanalyzer® 检测。

A. 大肠杆菌基因组 DNA 文库。1：Ladder；2：NEB Next DNA Library Prep Master Mix Set 制备文库；3：NEB Next Ultra DNA Library Prep Kit 制备文库。

B. 从保存 10 年的 FFPE 块中提取肿瘤基因组 DNA。

1：使用 NEBNext Ultra DNA Library Prep Kit (E7370)制备的文库；
2：起始 DNA。

Ultra RNA 文库制备试剂盒推出新品！

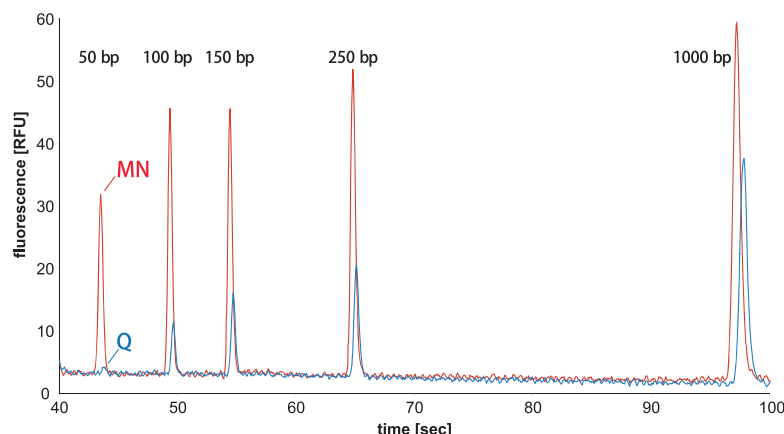
Ultra™ Directional RNA Library Prep Kit

- ✓ 低起始样本样本量：仅需10 ng（纯化的mRNA或去除rRNA）样本，或100ng总RNA
- ✓ 流程简便、快捷：仅需5小时即可制作出方向性序列文库
- ✓ 超保真扩增，无 GC 偏嗜性
- ✓ 适用于Illumina 平台

NGS热点应用

NucleoSpin® Plasma XS——外周血游离DNA → 唐氏综合症筛查

- ✓ 可从240 uL的血浆/血清样本中提取DNA片段
- ✓ 捕捉游离的DNA片段：高效回收**50 bp**以上DNA
- ✓ 高浓度：独特设计的离心柱，洗脱体积可低至**5uL**

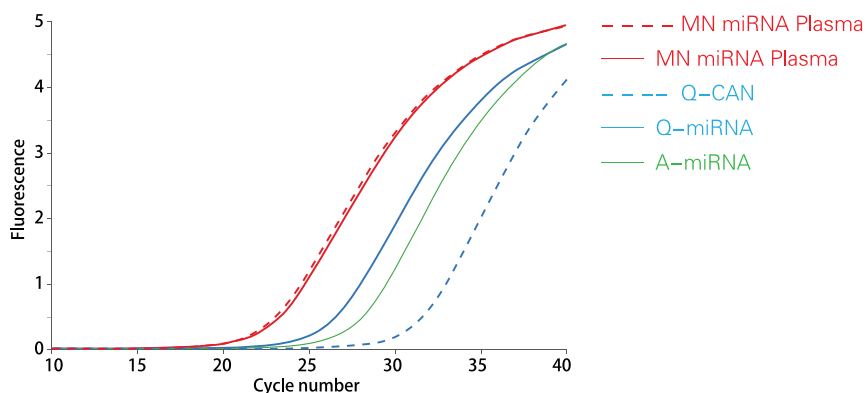


将50 bp、100 bp、150 bp、250 bp、1000 bp的DNA 片段和血浆DNA混合在一起，之后使用NS plasma XS 和Q厂产品纯化混合DNA,使用Agilent Bioanalyzer® 检测。

结果如图所示，Q厂产品纯化产物中，50 bp片段几乎全部损失，仅得到100 bp-1000 bp片段DNA，与其相比，**NS plasma XS 纯化产物中，各片段均得到极高的回收。**

NucleoSpin® miRNA
NucleoSpin® miRNA Plasma → Small RNA Sequencing

- ✓ 从组织、细胞、血浆中提取small RNA
- ✓ 高效回收**200 bp**以下RNA
- ✓ **35分钟**即完成small RNA提取



分别使用MN、Q厂和A厂产品提取血浆RNA，随后对miR-16进行qRT-PCR分析(使用Applied Biosystems, TaqMan® MicroRNA RT Kit, hsa-miR-16 MicroRNA Assay)。

不同的Ct值表明，MN产品提取产物中起始样本量更高。

常规应用——产品线丰富

PCR纯化：硅胶膜及磁珠法产品，高效回收50bp–15Kbp片段，回收率高于80%

临床样本DNA、RNA提取：血液、唾液、排泄物、拭子

微量DNA、RNA提取：有效提取0.025–10 mg的微量组织样本

困难样本DNA、RNA提取：FFPE、植物、种子、食品、病毒…

高通量提取产品：以8连管或96孔板的高通量形式提取质粒、多种样本的RNA或DNA。可使用微孔板离心机、真空抽滤泵或自动工作站进行试验。

如果您也对MN核酸提取产品感兴趣，我们可以向您提供试用装！如需试用，请联系各分区销售代表！

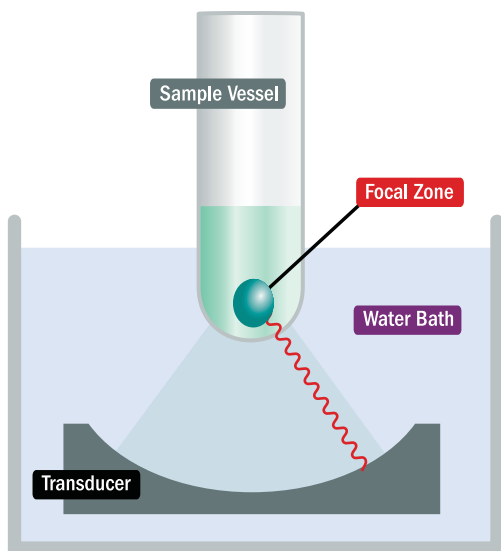
Covaris™ AFA系列产品——DNA剪切金标准

Covaris™自动聚焦声波样本处理系统采用业界领先的自动声波聚焦（AFA）技术，整合了非线性、高强度、会聚性声学冲击波和高级计算机控制系统，通过圆盘状传感器将声波能量聚焦在样品上，且能量强度可控，从而实现对样本的高性能处理。

AFA技术：受控的液体空穴化动力学过程



通过能量控制，完成不同应用

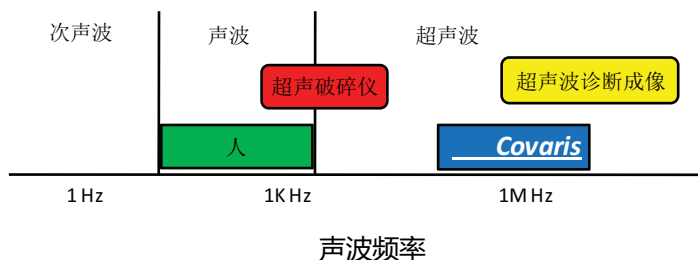


Covaris设计特点

- ✓ 0.5MHz的球面固态超声传感器
- ✓ 几何聚焦声波能量
- ✓ 非接触的可控制聚焦声能
- ✓ 声学优化的样品容器设计
- ✓ 装载样品的容器可根据声波聚焦带进行调整
- ✓ 水浴系统可维持均一的处理温度

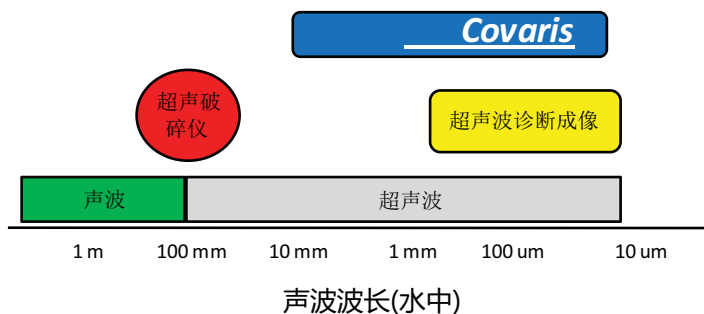
大功率

Covaris可产生高达1兆赫兹的声波频率，远高于传统超声波破碎技术，如下图。



能量可控

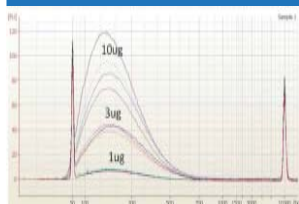
Covaris可产生一系列不同波长的声波，如下图。因此可根据应用范围和样品量来选择波频率和波形来控制聚焦带的尺寸和声波强度。



Covaris在NGS应用中的显著优势

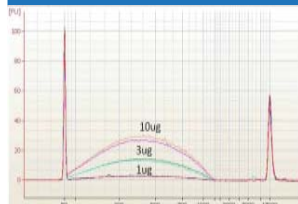
- ✓ 能量、频率可控，可根据应用范围和样品量来选择波频率和波形来控制聚焦带的尺寸和声波强度
- ✓ 样本容器封闭，处理过程中不与样本直接接触，无交叉污染、无样本损失，剪切过程的温度恒定
- ✓ 高重复性，DNA剪切的片断均匀分布在预定的大小内
- ✓ 各种优化的Protocol，可剪切出100bp–5kb的DNA片断

剪切200bp片段

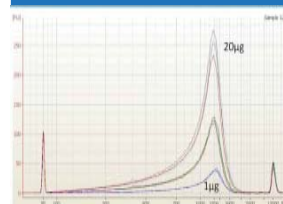


Covaris™AFA技术产品与所有二代和三代测序平台兼容，可对100bp–5kb范围的DNA片段进行高质量的剪切，DNA片段紧密分布在指定的大小范围内,得到片段的一致性和初始样本的量无关。

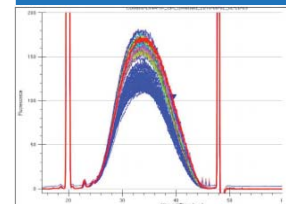
剪切450bp片段



剪切1500bp片段



剪切96个样本



Covaris™AFA技术可得到高重现的结果

传统方法劣势

雾化(氮气)

- 样本损失大
- 重复性低
- 通量低

流体力学设计的剪切仪

- 样本损失大
- 样本残留造成交叉污染
- 重复性低
- 通量低
- 不易优化

酶切法

- 酶切位点不定,切割的DNA片断大小分布较广
- 重复性低
- 酶切过程较难控制,不易优化

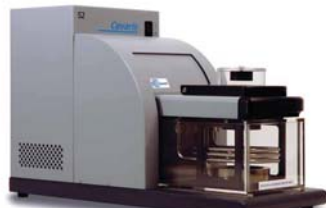
超声波破碎仪

- 易造成交叉污染
- 破碎过程中温度不恒定
- 不易重复
- 样本损失大

多种仪器，满足高通量需求！



M220™
单管



S220™
单管



L220™
多管/96孔板

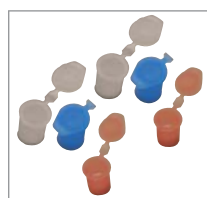


LE220™
96-1536孔板

不同耗材，剪切100bp-20 kb片段！



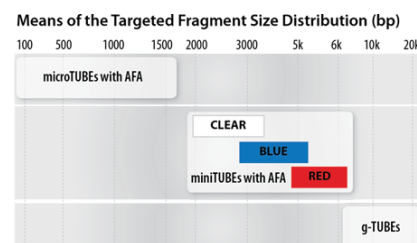
microTUBES™



miniTUBES™



g-TUBES™



使用不同种耗材，可剪切多种片段。

Caliper，微流体芯片技术领跑者

Lab Chip GX/GX II可提供全面的高质量核酸检测数据和强大的分析功能，具有数十甚至数百倍于传统的检测速度，完备的试剂耗材及配套认证，操作简便，安全可靠等优势，无疑将使传统的手工一维核酸电泳检测成为历史。

高效！

每次可检测**1-384**个样品，可以达到 **28s/ 样品**的检测速度

自动！

灌胶、上样、染色、成像、分析并给出结果全部自动化完成

智能！

软件功能同样强大。可输出峰图、胶图和数据表格或其组合，**对不同批次乃至不同实验间的数据进行平行比对**

经济！

一张芯片可重复使用数百上千次



DNA

DNA片段定量及检测
PCR
RT-PCR
Sequencing
Genotyping



RNA

RNA质控及定量
Microarrays
qRT-PCR
Biobanking
Sequencing



蛋白

蛋白条带选择及定量
蛋白表达及优化
蛋白纯化及定量

LabChip XT，精确的自动化核酸片段收集

Small RNA Sequencing 的起始需要高质量的小RNA文库。传统的切胶方式效率很低，而且会为后续的数据处理引入大量的垃圾数据。

LabChip XT核酸分离系统是Caliper公司基于前沿的Lab-on-chip技术研发的一种自动化的核酸回收仪器。Broad Institute等大型基因组测序中心及三大NGS供应商的测试表明，LC XT的DNA 300 Assay有助于减少Illumina及ABI测序平台的无效读序，增加Roche平台的平均读长，并且数据质量均一，受GC比例的影响很小。

- ✓ 30分钟内自动完成4个样品的电泳-目标片段分离-回收
- ✓ 排除交叉污染，为分析和定量提供了数字数据
- ✓ 避免DNA样品的紫外损伤
- ✓ 产生更多有效数据，减少会影响拼接的垃圾数据



Let Professionals Serve Professionals

香港: 852-28966283

北京: 010-51665161

上海: 021-64951899

广州: 020-85524840

天津: 022-88293136

成都: 028-85379310

武汉: 027-87166462

南京: 025-83248692

沈阳: 024-23341315

西安: 029-82501196

昆明: 0871-5349992

重庆: 023-68614842

济南: 0531-86560825

杭州: 0571-87229824

长沙: 0731-84476562

郑州: 0371-86092109

福州: 0591-83212139

石家庄: 0311-67793229

www.genecompany.com



Gene Company Limited
基因有限公司

A Gene Group Company