



GENOMICS

基龍米克斯

NGS

次世代定序服務產品型錄



Illumina 二代定序



10x 單細胞服務



PacBio 三代定序



Olink 蛋白質體服務



目錄

Introduction 01

服務簡介 1

DNA 02

De Novo Assembly 2
Resequencing 4

RNA 06

Transcriptome 7
Iso-Seq 8
Differential Gene Expression (DGE) 9
Small RNA-Seq 10
Long non-coding RNA-Seq (LncRNA-Seq) 11

Metagenomics 12

16s rDNA Sequencing 12
Metagenomics Sequencing 14

PacBio 15

Whole-Genome Sequencing /
HiFi *De Novo* Assembly 17
Target Sequencing 19
Iso-Seq 20

10x Genomics 21

Single Cell RNA-Seq 21
Single Cell Sample Multiplexing 22
Single Cell Immune Profiling 23
Loupe Browser 23

Olink™ Proteomics 24

蛋白質體學高通量服務 24

附錄 26

送樣須知與注意事項 26

基米擁有最完整的定序平台、 經驗豐富的實驗團隊、強而有力的生資分析

服務量穩居
全台之冠

品質穩定

設備

- MiSeq
- NextSeq 500
- 10x Chromium Controller
- 560 核心高規格機房與高速雲端運算平台
- NovaSeq
- Sequel
- 10x Chromium X



服務項目

DNA

- *De Novo* Sequencing
- Resequencing (WGS、WES、Target Sequencing)
- 16S/ITS rDNA Sequencing
- Metagenomics Sequencing
- Others

RNA

- *De Novo* / Genome-guide Transcriptome
- Iso-Seq
- RNA-Seq (mRNA Quantification)
- Non-Coding RNA-Seq (LncRNA / small RNA)
- Single Cell RNA-Seq / Immune Profiling
- Others

服務流程



服務經驗

DNA 服務品項	完成樣本數
WGS	> 3,500
WES	> 7,000
Target Sequencing	> 4,000
16s Sequencing	> 25,000

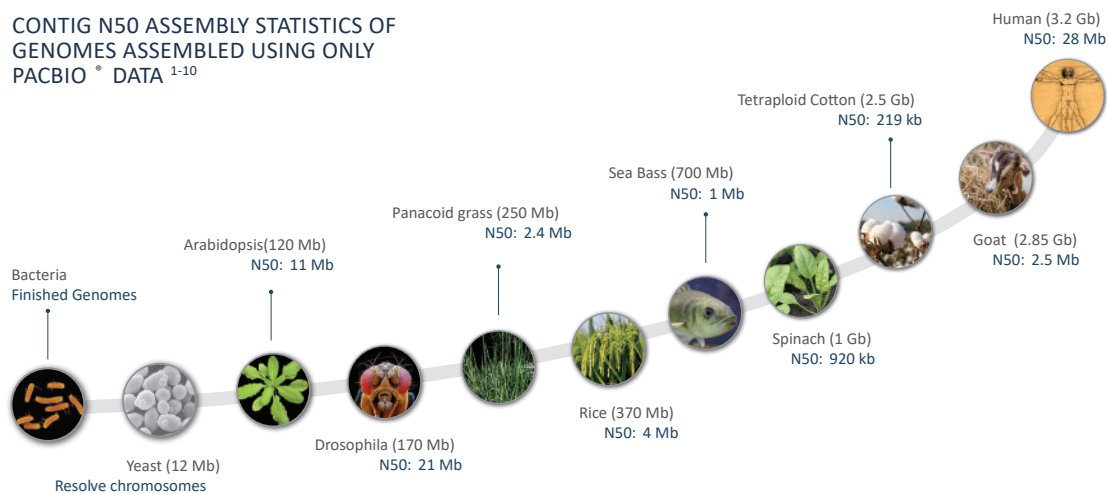
RNA 服務品項	完成樣本數
<i>De Novo</i> Transcriptome / DGE	> 12,000
Non-coding RNA-Seq	> 800
10x Service	> 100
PacBio 全品項	> 3,500

【De Novo Assembly】基因組定序組裝服務

應用

針對無參考序列的非模式物種或特殊品系模式物種，透過全基因體定序進行基因體組裝，產生高品質參考基因組，幫助研究人員進行後續更深入的研究，如育種、生命科學研究...等。

CONTIG N50 ASSEMBLY STATISTICS OF GENOMES ASSEMBLED USING ONLY PACBIO® DATA¹⁻¹⁰



大基因體組裝 / 多倍體基因體組裝

推薦採用 PacBio HiFi *de novo* Assembly 長片段且高品質定序，進行基因體組裝，可達到高品質的參考基因組。完全不再需要 NGS 數據校正！

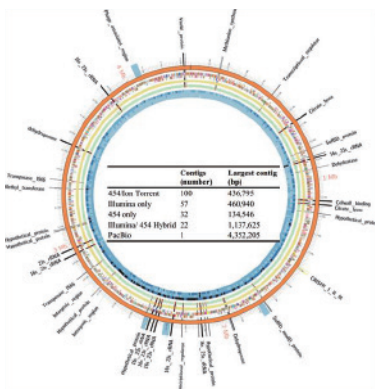
建議定序深度：≥ 15X HiFi coverage

PacBio詳細介紹，可參閱本目錄P.15 ~ 20

微生物基因體組裝 / 小基因體組裝

微生物使用 PacBio 組裝可達到 One Genome One Contig

建議定序數據量：≥ 1Gb



使用 PacBio 完成 *Clostridium autoethanogenum* 基因體 (4.3 Mb) 組裝，不須其他技術即可完成環狀且高品質之基因體，達到 1 Contig = 1 Genome 的成效。

備註：使用其他 NGS 技術之組裝結果為 22~100 contigs。

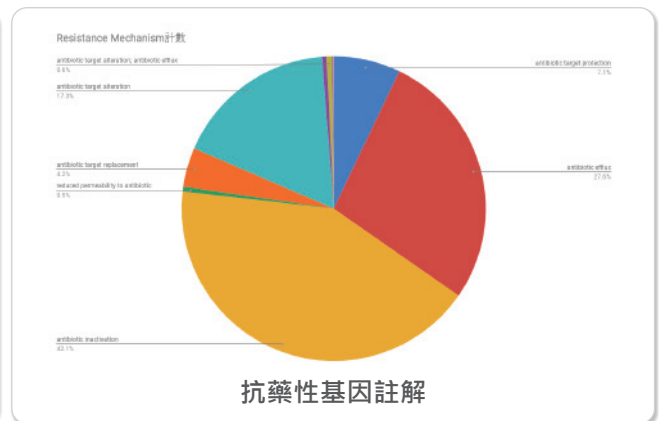
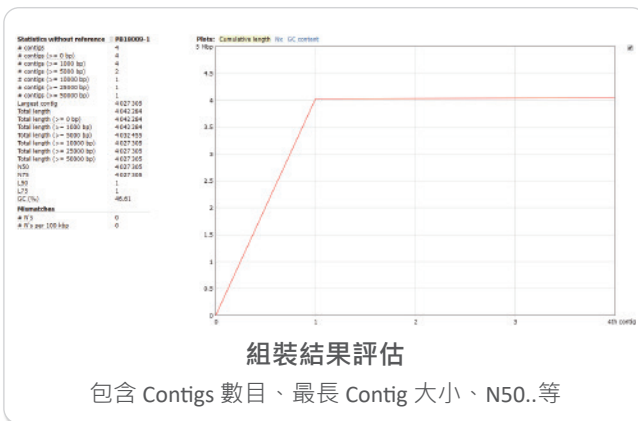
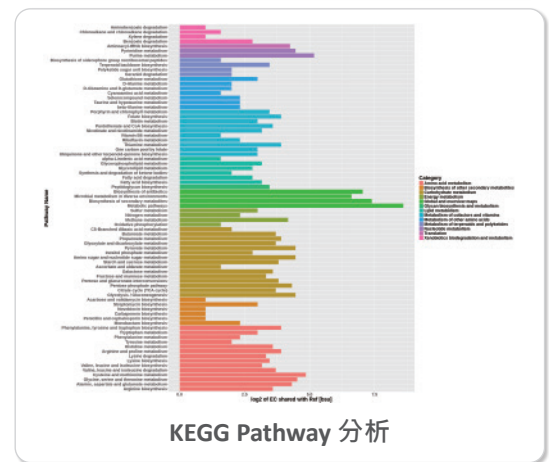
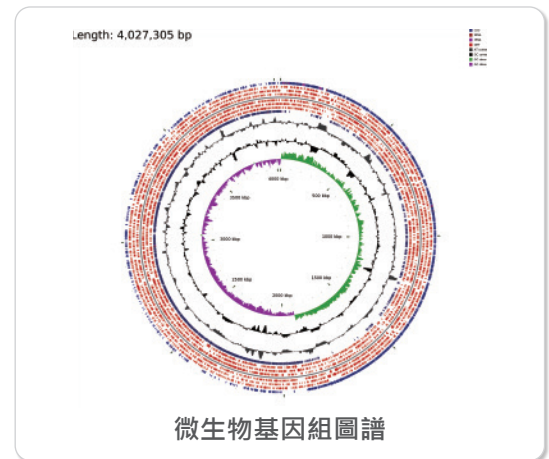
Brown et al. (2014) Comparison of single-molecule sequencing and hybrid approaches for finishing the genome of *Clostridium autoethanogenum* and analysis of CRISPR systems in industrial relevant *Clostridia*. *Biotechnology for Biofuels* 7:40

標準分析內容

- 原始數據品管 (Subreads Quality Filtering)
- 基因體組裝 (Genome Assembly)
 - HGAP
 - Polished Contigs Coverage
 - Fixed Polished Assembly

以下分析僅提供於微生物組裝服務

- 基因預測 (Gene Prediction)
- 基因註解 (Annotation)
 - 核苷酸比對 (Contig annotation) : BlastN
 - 蛋白質比對 (Functional annotation) : BlastP
- 蛋白質功能性分析進階分析 (Functional Analysis)
 - COG資料庫
 - GO資料庫
 - KEGG資料庫
 - 抗藥基因資料庫
- 染色體圖譜



參考文獻

1. 使用 PacBio, Illumina 與 Dovetail 技術平台，完成牛樟高品質參考基因體組裝 (台灣發表)
Shu-Miaw Chaw et al. Stout camphor tree genome fills gaps in understanding of flowering plant genome evolution. *Nature Plants* 5, 63–73 (2019)
2. Low input *de novo* assembly，150 ng DNA 即可進行定序組裝
Sarah B. Kingan et al. A High-Quality *De novo* Genome Assembly from a Single Mosquito Using PacBio Sequencing. *Genes* 2019 Jan 18;10(1)



【Resequencing】基因組重定序服務

應用

對於已有參考序列之 DNA 進行重定序，以了解樣本中該序列組成或變異狀況，如 SNV、INDEL 與 SV 的偵測。可用於人類遺傳疾病、癌症等研究，也可應用於動植物分子育種計畫。

重定序服務種類與規格建議

服務種類		平台選擇	
		Illumina	PacBio (詳見 P.15)
WGS	建議深度	30X	≥ 5X (詳見 P. 17)
	建庫定序規格	Shotgun library, 150PE	≥ 15kb library
	定序範圍	全基因組	全基因組
WES	建議深度	100X (germline mutation)	Non-recommended
		200-300X (somatic mutation)	
	建庫定序規格	Agilent SureSelect Human All Exon V7, 150PE	
		Agilent SureSelect Human All Exon V8+NCV, 150PE	
Roche KAPA HyperExome, 150PE			
定序範圍	外顯子區域		
Target Sequencing	建議深度	≥ 500X	詳見 P. 19
	建庫定序規格	利用 PCR 或 Probe 捕獲方式建庫，可搭配 commercial Panel (掃下方 QR code 挑選 Panel)	利用 PCR 或其他捕獲方式進行大片段建庫定序
	定序範圍	目標區域基因	目標區域基因

※ 高多態性或低複雜度區域，如重複序列...等，建議可使用 PacBio 平台進行偵測。



Qiagen Panel
(PCR-based)



Illumina AmpliSeq Panel
(PCR-based)



Illumina TruSight Panel
(Probe-based)

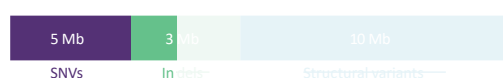
WGS Method

Cost

Variants in the Human Genome

Short-read sequencing
30-fold coverage

\$



PacBio SMRT Sequencing
10-fold coverage

\$



PacBio SMRT Sequencing
30-fold coverage

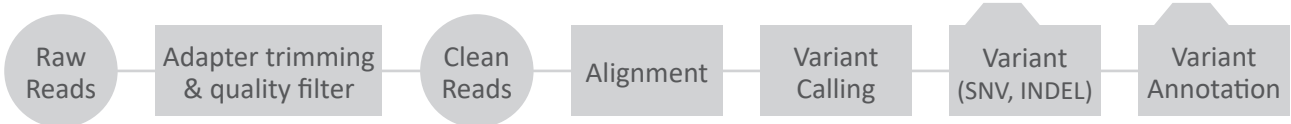
\$\$\$



Illumina 與 PacBio 可偵測的 DNA 變異

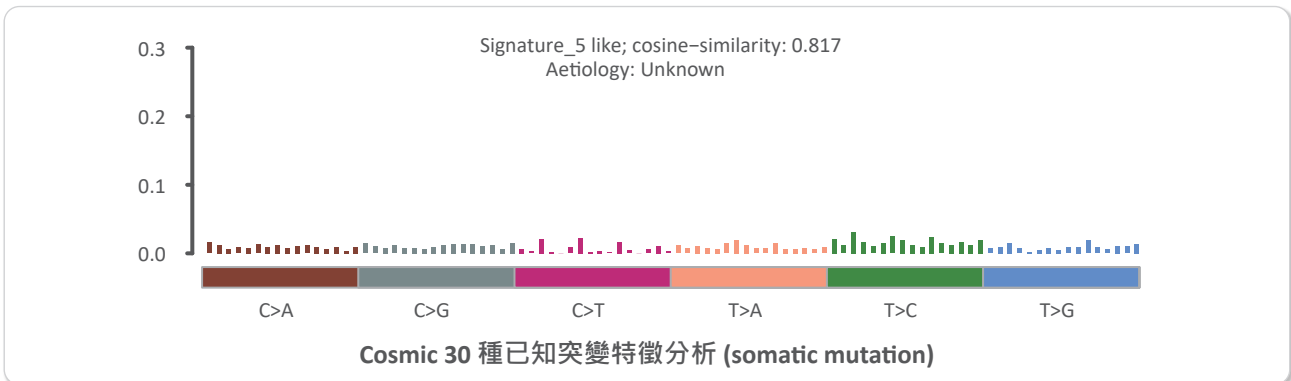
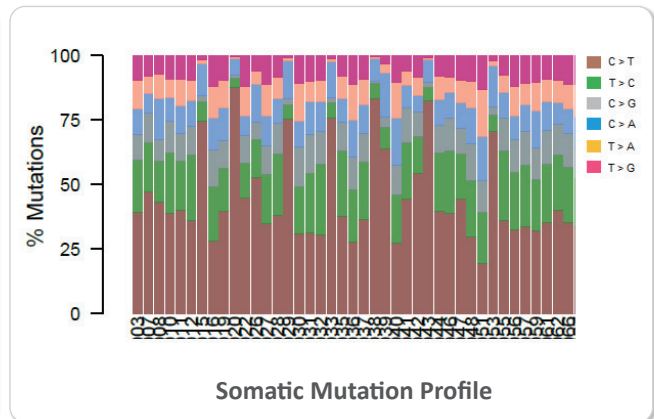
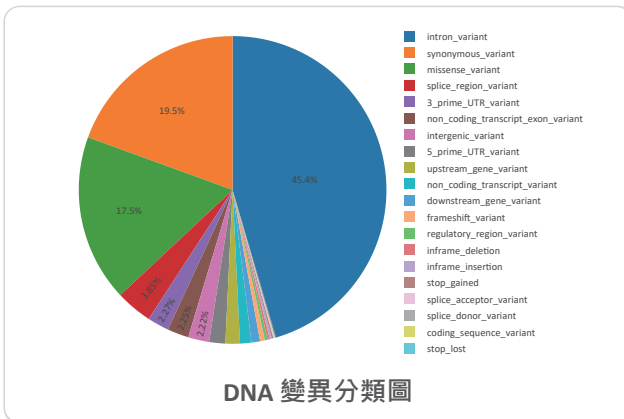
	illumina	PacBio
SNPs	✓	✓
InDel	✓	✓
Duplication	✗	✓
Translocation	✗	✓
Inversion	✗	✓
Tandem Repeat	✗	✓

分析流程



標準分析內容

- ▶ 原始數據品管 (Reads Quality Filtering)
- ▶ Reads Mapping
- ▶ 變異點偵測 (Variant Calling)
- ▶ 變異點註解 (Variant Annotation)



加值服務

全外顯子基因檢測方案 InheriNext

- ▶ 可用於罕病基因檢測
- ▶ 註解資料庫：1000 Genome、ACMG、ClinVar、gnomAD、Taiwan Biobank、TOPMed

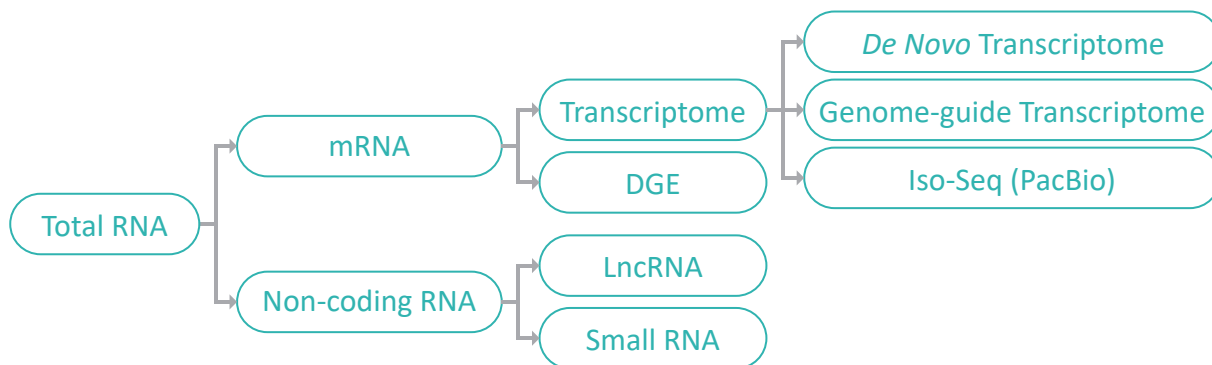
註 基因檢測不等於診斷

面對遺傳性疾病，您更需要：

1. 正確找到致病原因
2. 精準選擇治療手段
3. 早期控制疾病傷害
4. 完善設計優生計畫

RNA

對於特定種類 RNA 分子進行定序以了解樣本間 RNA 表現狀況的差異。RNA 產品分類如下圖



產品項目	是否需參考序列	建議物種	定序平台	建議規格	說明
<i>De novo</i> Transcriptome	N	全物種	Illumina NovaSeq	150 PE ≥ 6 Gb output	Transcript <i>de novo</i> Assembly、基因表現量分析、基因差異表現、基因功能的差異表現
Genome-guide Transcriptome	Y	需有完整性高的參考序列	Illumina NovaSeq	150 PE ≥ 6 Gb output	Genome-guide Transcript Assembly、基因表現量分析、基因差異表現、基因功能的差異表現 (需有 chromosome 等級以上 reference genome 及基因註解尤佳)
Iso-Seq	N	真核生物	PacBio Sequel I/ Sequel II	≥ 30 Gb	Full-length transcript / isoform survey and discovery
Differential Gene Expression (DGE)	Y	模式生物	Illumina NovaSeq	150 PE ≥ 20 M reads	基因表現量分析、基因差異表現、基因功能的差異表現
Long non-coding RNA (LncRNA)	Y	模式生物	Illumina NovaSeq	150 PE ≥ 6 Gb output	Novel lncRNA identification、lncRNA expression profile、function of lncRNA
Small RNA	N	模式生物*	Illumina NovaSeq	75 SE ≥ 20 M reads	Novel miRNA identification、miRNA expression profile、differentially expressed miRNAs

* The species database of small RNA should be searched at miRbase (<http://www.mirbase.org/cgi-bin/browse.pl>)

【Transcriptome】轉錄組定序服務

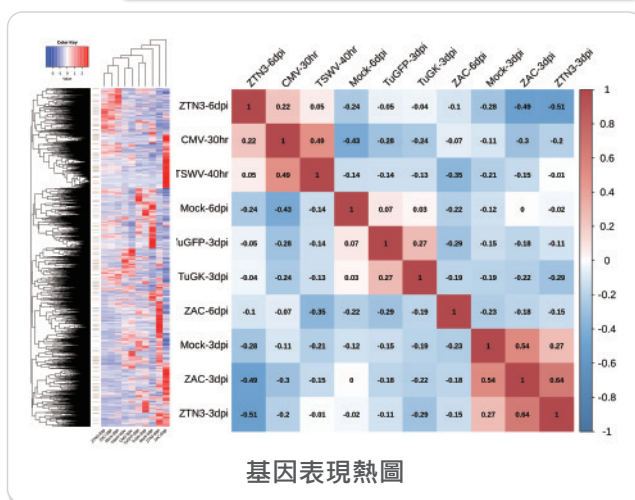
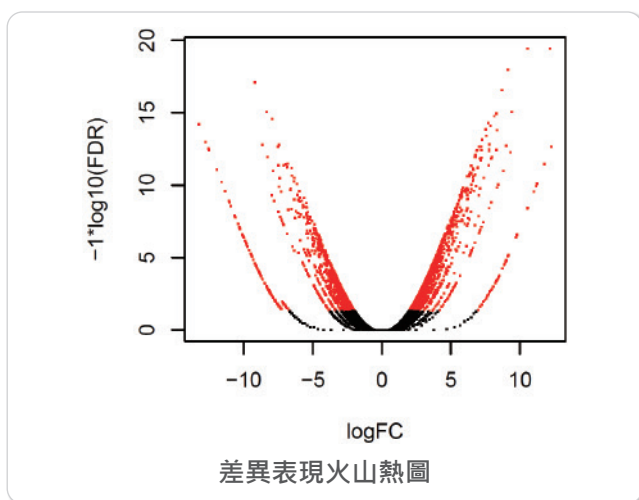
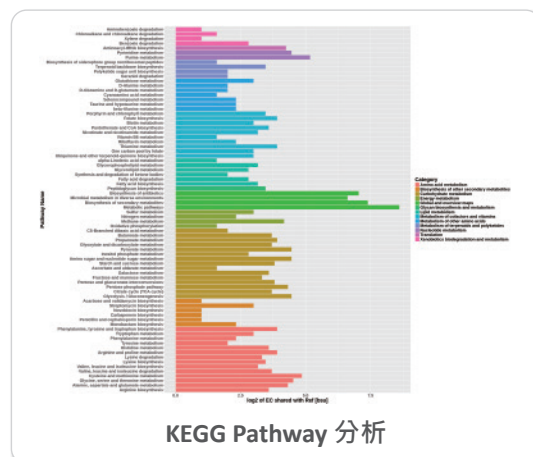
探討基因表達及基因序列的主要工具，能夠獲得特某一組織或器官在特定狀態下所有轉錄組序列資訊，需透過**組裝**的方式，取得所有轉錄組序列資訊，廣泛應用於基礎研究、臨床診斷和藥物研發等領域。

平台優勢

价格便宜且通量高，可針對組裝出來的 transcript 完成差異表達分析。

標準分析內容

- ▶ 原始數據品管 (Quality Filtering)
- ▶ Transcript Assembly (*De Novo* or Genome-guide)
- ▶ 基因表現量分析
- ▶ 基因差異表現
- ▶ 基因功能的差異表現
 - GO富集分析
 - KEGG富集分析



【Iso-Seq】全長轉錄異構體定序服務

生物體中 > 90% 的基因都具有多個外顯子 (exon)，在轉錄時會因為選擇性剪接 (Alternative splicing) 之效應產生不同的轉錄本 (transcript)，這些來自同一基因但不同剪接方式的轉錄本則稱為「轉錄異構體 (isoform)」。

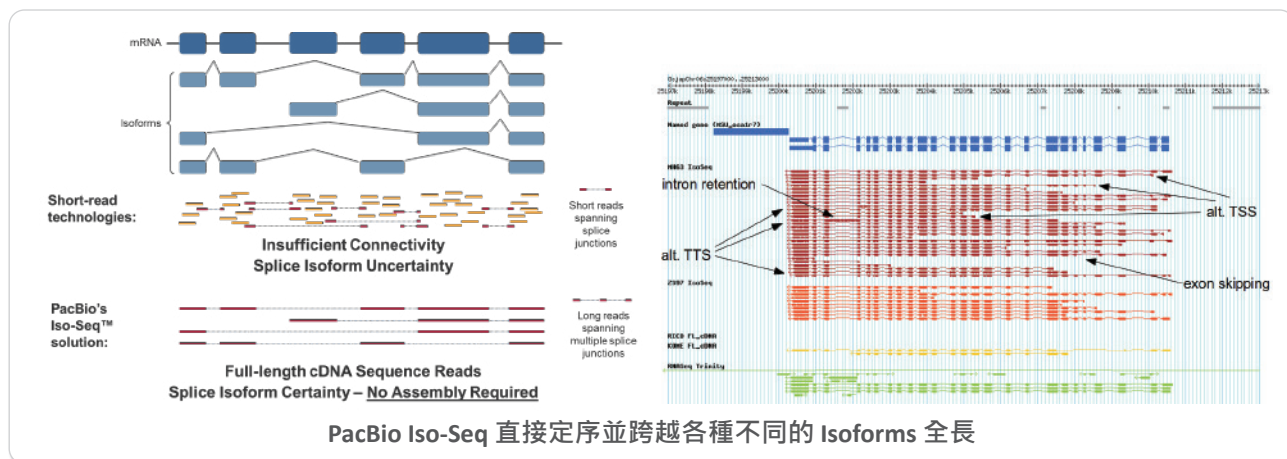
平台優勢

PacBio Iso-Seq 直接定序全長轉錄本 (full-length transcript)，**不須進行組裝**，藉由此法可以探測轉錄本之多樣性，以及發現新的轉錄異構體 (novel isoform)，對於定性與建構資料庫來說擁有非常好的效果。

詳細規格請見 PacBio 專題 P.20

標準分析

- 原始數據品管
- 轉錄異構體偵測與預測 (HQ Isoform Prediction & Discovery)



	Source	Platform	Protocol	Species	Cutivar / Organ	# of sequences	Average size (bp)
	RICD	Sanger	FL cDNA	<i>O. s. indica</i>	MH63 / various	12,727	643
	KOME	Sanger	FL cDNA	<i>O. s. japonica</i>	Nipponbare / various	37,132	1746
NGS short reads	AGI (unpubl.)	Illumina	RNA-Seq	<i>O. s. japonica</i>	Nipponbare / root	125,762	874
PacBio long reads	AGI	PacBio	Iso-Seq	<i>O. s. indica</i>	MH63 / leaf	73,288	2416
	AGI	PacBio	Iso-Seq	<i>O. s. indica</i>	ZS97 / leaf	22,856	2033

PacBio Iso-Seq 有更加精準且長度更加完整的 Isoforms information!

【Differential Gene Expression, DGE】

基因表現量分析服務

在不同組織、不同發育階段、或是處於不同環境下，生物體之 mRNA 表現均不相同。藉由參考序列 (Whole-Genome or Transcriptome)，搭配適當的生物資訊分析，可計算出樣品之各基因表現量，也可進行樣品間的基因差異表現量計算。

平台優勢

鍊特異性建庫方式 (Strand-specific)，价格便宜且通量高，可針對回貼到的 genes / isoforms 完成差異表達分析。

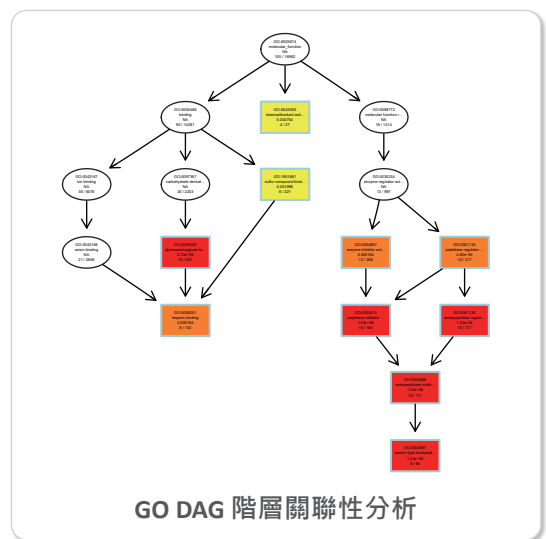
標準分析內容

NEW

- ▶ 原始數據品管 (Quality Filtering)
- ▶ 基因表現量分析
- ▶ 基因差異表現
- ▶ 基因功能的差異表現

- GO 富集分析
- KEGG 富集分析

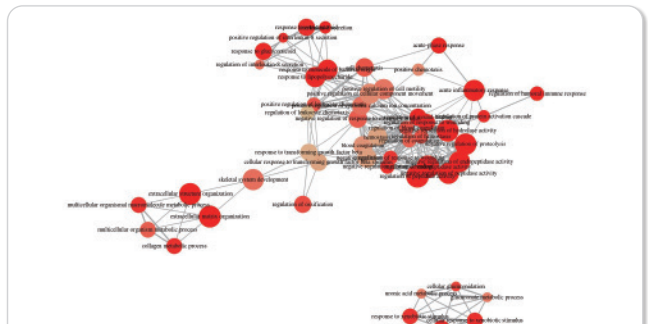
2022 標準分析流程全新升級，歡迎索取範例報告，了解詳細分析內容！



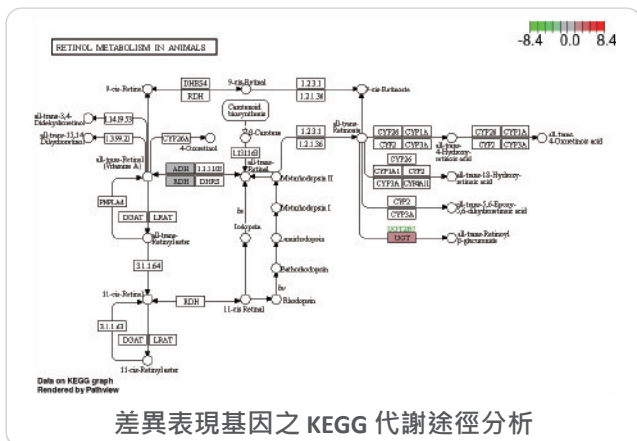
基因表現差異總表

此表格顯示了基因表現差異的詳細數據，包括基因名稱、log2 fold change、p-value 等。表格中有多列數據，部分數據以紅色和綠色高亮顯示。

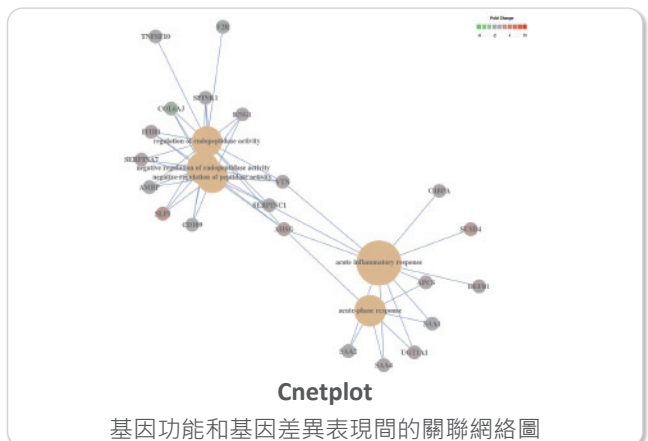
基因表現差異總表



EnrichMap: GO 富集關聯網絡圖



差異表現基因之 KEGG 代謝途徑分析



基因功能和基因差異表現間的關聯網絡圖

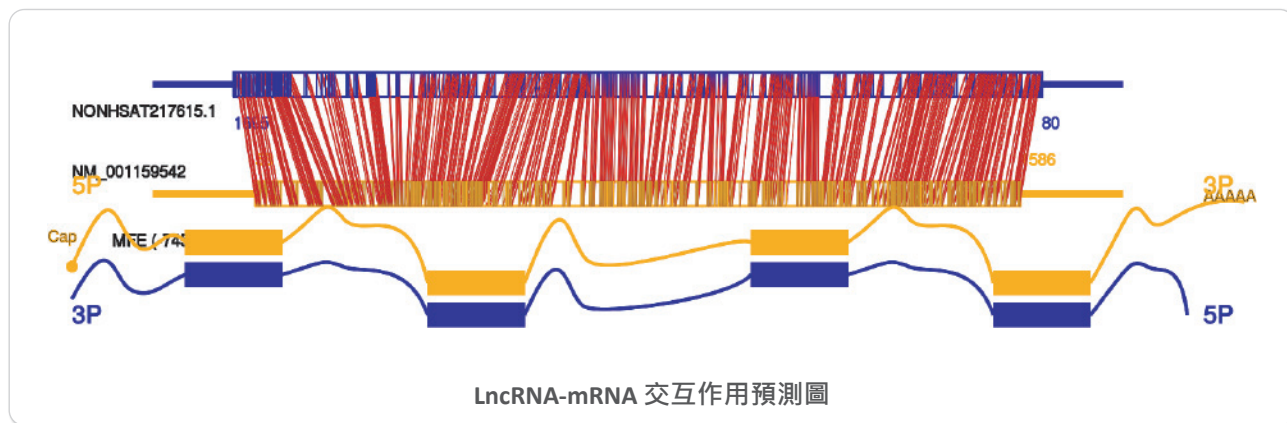
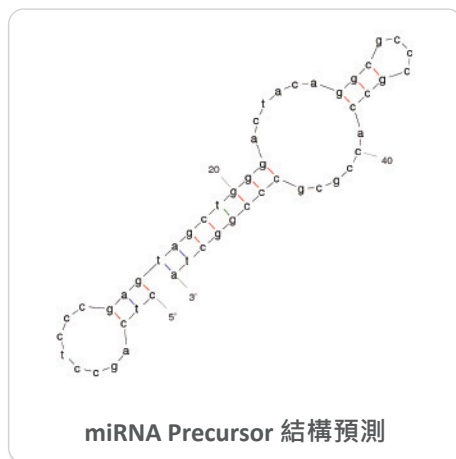
【 Long non-coding RNA-Seq (LncRNA-Seq) 】

長鍊非編碼RNA定序服務

LncRNA 是長度大於 200 nt 且不具有蛋白質編碼資訊的 RNA。將 Total RNA 移除 rRNA 後進行建庫，可同時獲得 poly-A tail mRNA 和 Non-poly-A tail RNA 之定序結果。此法用來鑑定新的 lncRNA，研究 lncRNA 在基因轉錄調控、發育以及疾病的發展過程之參與角色。

標準分析內容

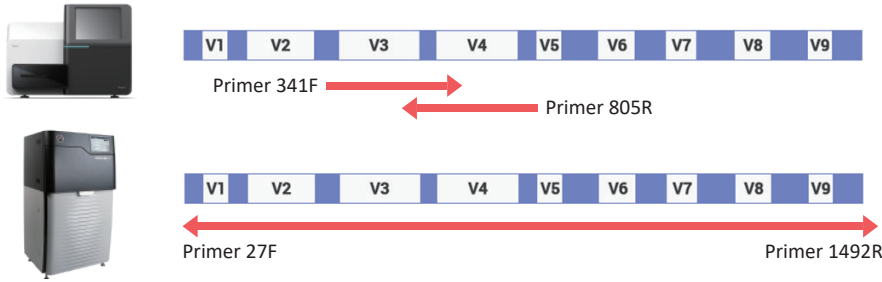
- ▶ 原始數據品管 (Quality Filtering)
- ▶ 基因作圖 (Genome Mapping)
- ▶ 結構預測 (Structure)
- ▶ lncRNA Identification
- ▶ 定量分析 (Quantification)
- ▶ 功能預測 (lncRNA Function)
- ▶ 表現差異 (Differential Expression)



【 16s rDNA Sequencing 】 16s rDNA 定序服務

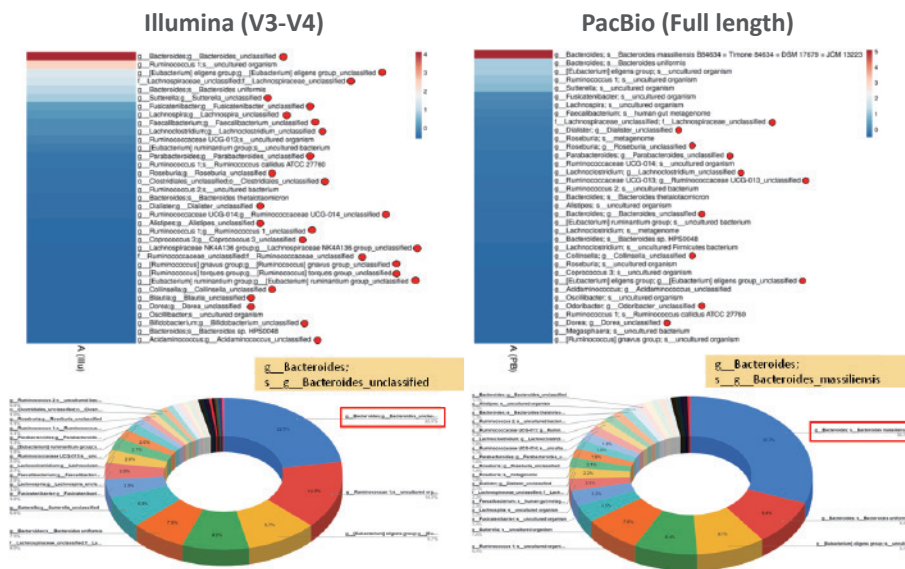
應用

16S rDNA 為原核生物核糖體小次單元的重要組成，其包含數個保守和變異區域 (V1-V9)，這些變異區域已是研究細菌分類鑑定的指標。廣泛用於生態環境的微生物、宿主內微生物以及醫藥領域的研究。



利用高專一性引子對將 16S gene 增幅出來，可更經濟地將定序數據應用於菌相多樣性與豐富度分析。我們提供短片段 (16S V3-V4) 與全長 (16S full-length) 定序服務，能夠依照您的研究目的和實驗預算選擇最適合的解決方案！

定序平台	定序儀	定序區域	建議深度
PacBio	Sequel I/ Sequel II	V1-V9 (約 1.5K 全長)	≥ 10,000±10% CCS reads
Illumina	MiSeq 300PE	V3-V4 (約 460 bp)	50,000±10% clean reads



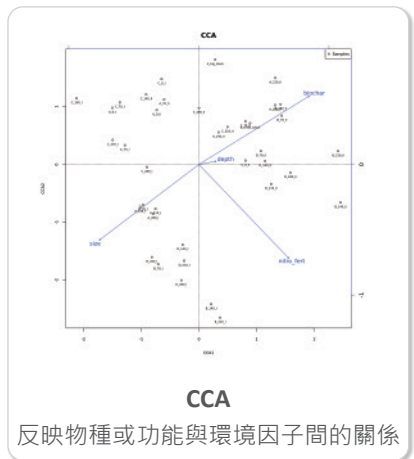
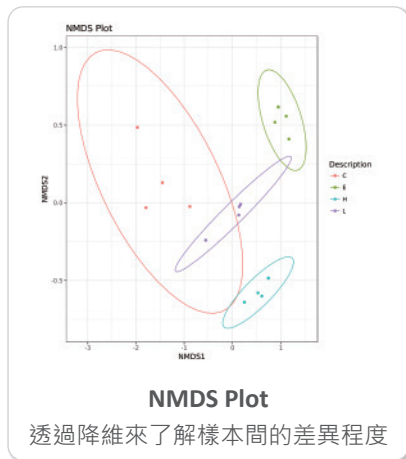
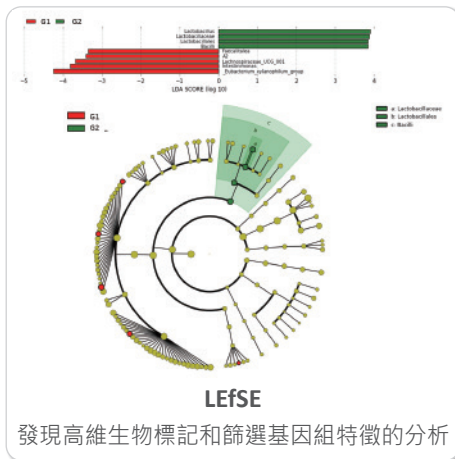
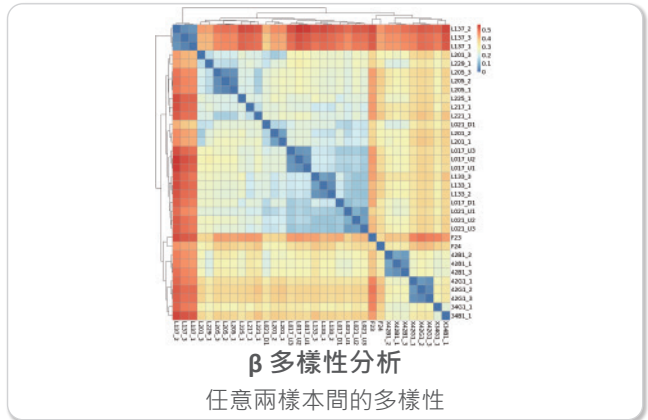
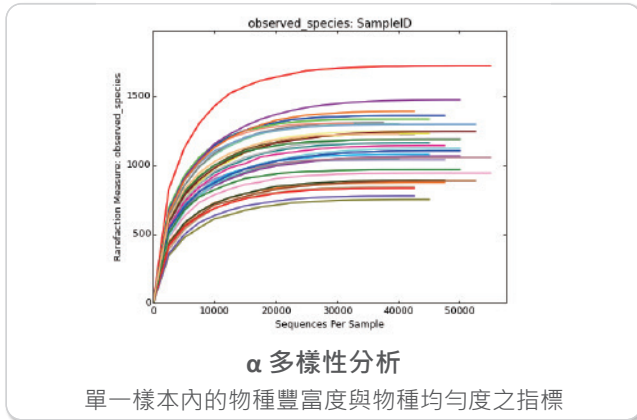
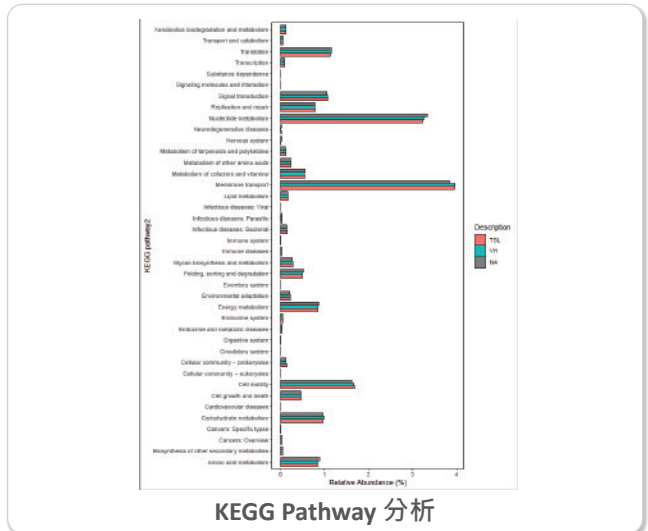
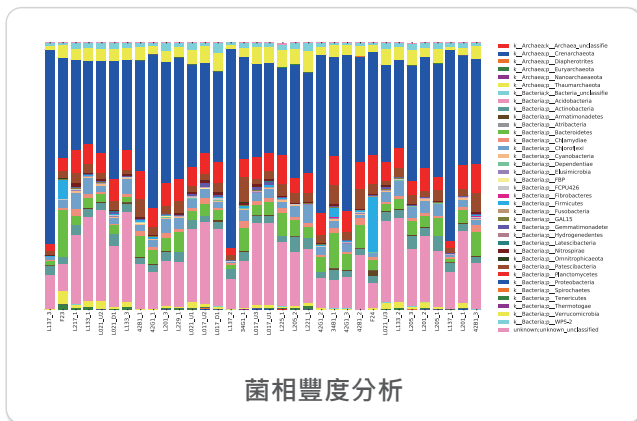
使用相同人體糞便樣品分別執行 Illumina (V3-V4) 與 PacBio 全長 (V1-V9) 16S 定序，兩種定序策略所得結果如上：兩定序策略在屬 (Genus) 層級之 TOP 35 物種比例分布相似，但在種 (Species) 層級的物種分類結果，PacBio 全長 (V1-V9) 能夠提供更準確的菌相解析度。紅點：species unclassified。

標準分析內容

NEW

- 原始數據品管
- OTU / ASV 與豐度分析
- 菌種鑑定與註釋
- 菌種豐富度分析 (α 多樣性分析與 β 多樣性分析)
- 組間差異進階統計分析 (如：PCA、PCoA、UPGMA、LefSE、NMDS、ANOSIM、MRPP、DCA、CCA、RDA、KEGG)

2022 標準分析流程全新升級，歡迎索取範例報告，了解詳細分析內容！



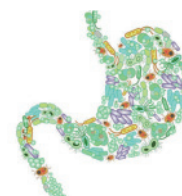
【Metagenomics Sequencing】總體基因體學定序服務

- ▶ 用來鑑定複雜族群以瞭解樣品中群組多樣性資訊，廣泛用於生態環境的微生物、宿主內微生物以及醫藥領域的研究。
- ▶ 直接萃取複雜族群的 gDNA mixture 進行 Shotgun 建庫，當數據深度足夠時甚至可組裝出細菌之全基因體。



建議規格

定序平台	定序儀	建議數據量
Illumina	NovaSeq 150PE	≥ 10 Gb

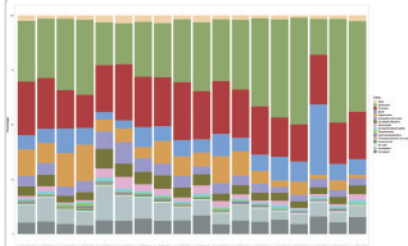


標準分析內容

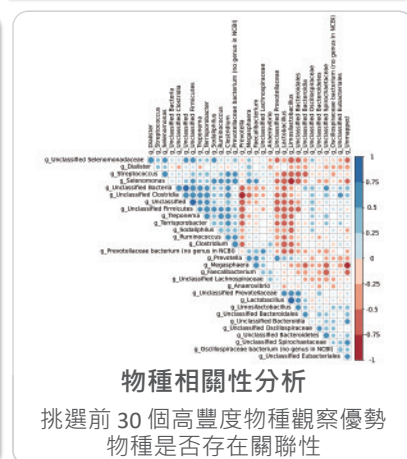
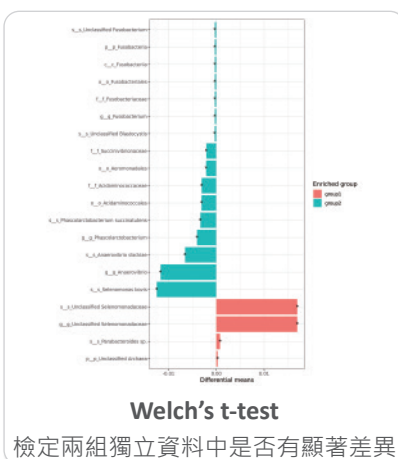
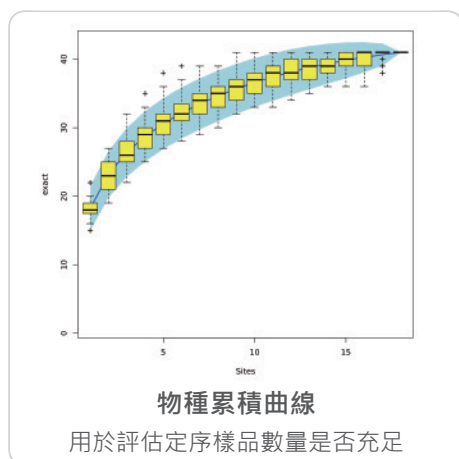
- ▶ 原始數據品管 (Quality Filtering)
- ▶ 基因體組裝 (Assembly)
- ▶ 序列分群 (Binning)
- ▶ 基因預測 (Gene Prediction)
- ▶ 物種註釋 (Species Composition)
- ▶ 多變量統計
(α 多樣性分析、 β 多樣性分析、PCA、PCoA、NMDS...etc)
- ▶ 差異統計
 - 組間群落組成差異分析
 - 差異物種分析
 - 物種相關性分析
- ▶ 功能資料庫分析

分類	屬性	數值
stats_assembly	N50	3041
stats_assembly	N70	891
stats_assembly	N90	475
stats_assembly	N95	379
stats_info	base	4009731793
stats_info	reads	2873902
stats_len	max	820803
stats_len	mean	1395.22
stats_len	median	577
stats_len	min	200
stats_len	mode	301
stats_len	modeval	8627
stats_len	range	820604
stats_len	stddev	4676.36

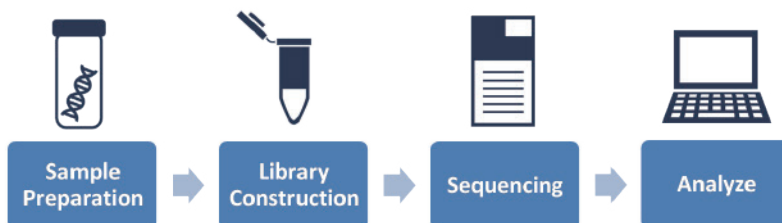
組裝相關統計表



物種組成柱狀圖



第三代定序龍頭，提供又長又準確的 HiFi Reads！



PacBio技術原理

PacBio 長讀取定序之技術原理為單分子即時定序 (Single Molecule Real Time Sequencing, SMRT Sequencing)，定序過程中無須 PCR 放大，並利用 ZMW technology 使其微小孔洞僅有一個 SMRTbell 進行 DNA polymerase 聚合反應，提供了超長讀長與高準確性的數據。

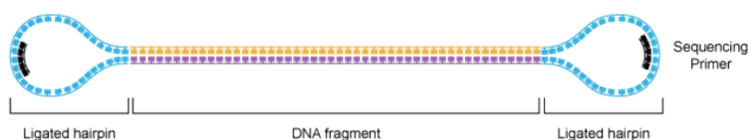


技術原理



應用選擇與定序建議

SMRTbell Library結構介紹



經過 Damage repair 及 End repair 後的 DNA 片段會連接上 hairpin adaptor，形成啞鈴型結構之 SMRTbell Library。定序前會將 SMRTbell Library、sequencing primer 與 DNA polymerase 三者結合成 complex，後續進行上機定序。

PacBio定序服務產品介紹



PacBio 產品分類樹狀圖

產品優勢

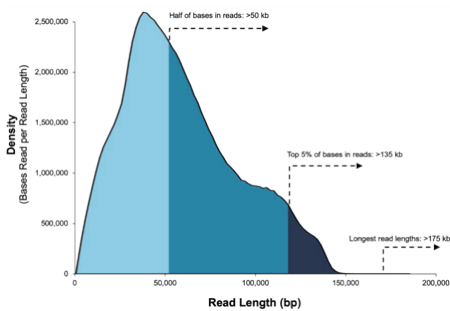
- ▶ **超長讀長**：半數以上讀長 > 50 kb，最長可達 175 kb (CLR 模式，Sequel II Chemistry v2.0)。
- ▶ **準確度高**：無系統性錯誤 (Free of systemic errors)，準確度可達 QV50 (>99.999%)，可支援 HiFi (CCS)、CLR 兩種模式的定序實驗。
- ▶ **單分子即時定序**：SMRTbell 解開成環狀定序，可形成高準確度 (QV20) 之 HiFi Reads。
- ▶ **均勻覆蓋度 (Uniform Coverage)**：定序過程無須 PCR，可順利通過複雜度高的困難序列 (例：GC-rich 區域)。
- ▶ **榮獲 TheScientist 十大發明獎**：2019/12/1 PacBio 再次以 Sequel II 榮獲此獎項，其評價為「PacBio 為長讀取定序技術樹立了標準，其儀器的升級將對基因組學產生重大影響」。(掃描 QR Code 看完整報導)。



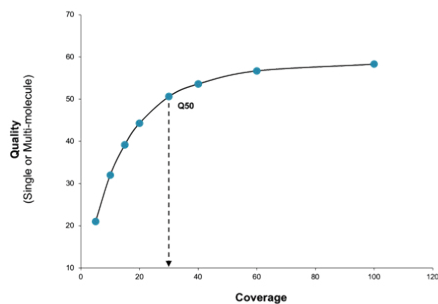
定序平台規格

儀器名稱	Sequel IIe / Sequel II	Sequel
SMRT Cell 規格	SMRT Cell 8M	SMRT Cell 1M (LR)
準確度 > 99% HiFi Reads 之數量*	Up to 4,000,000 reads	Up to 500,000 reads
每片 Cell 輸出量 (Gb)	≥ 120 Gb (CLR mode)	10±10% Gb (1M cell) 25±10% Gb (1M LR cell)
	≥ 280 Gb (CCS mode)	
	≥ 15 Gb HiFi data (HiFi mode)*	

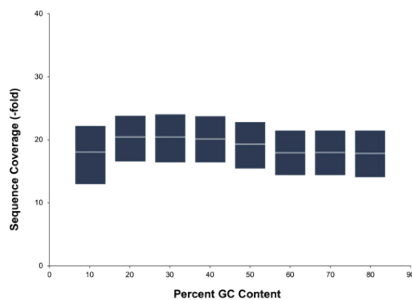
*Number of HiFi reads is dependent upon the insert size and sample quality.



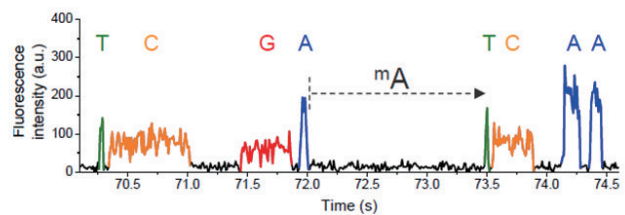
定序讀長與序列數目分布圖，有半數以上的序列長度可 > 50 kb
35 kb size-selected E. coli library using the SMRTbell Express Template Prep Kit Sequel II System (2.0 Chemistry, Sequel II System Software v8.0, 15-hour movie, CLR mode)



在覆蓋度 30X 時，定序準確度可達 QV50。
Bacterial genome library run on the Sequel II System (2.0 Chemistry, Sequel II System Software v8.0)



不同 % GC 比例的定序實驗，能夠維持穩定的覆蓋度。
15 kb human library on a Sequel II System (2.0 Chemistry and Sequel II System Software v8.0)



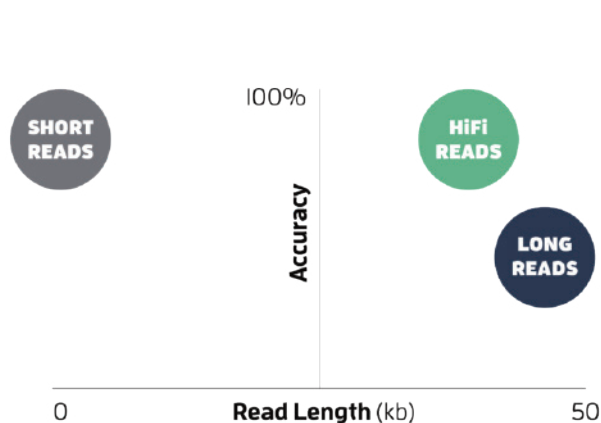
有修飾的鹼基在 DNA 聚合反應的速率較慢，在定序過程中可同時偵測鹼基修飾，應用在 Epigenetics。

【Whole-Genome Sequencing / HiFi De Novo Assembly】

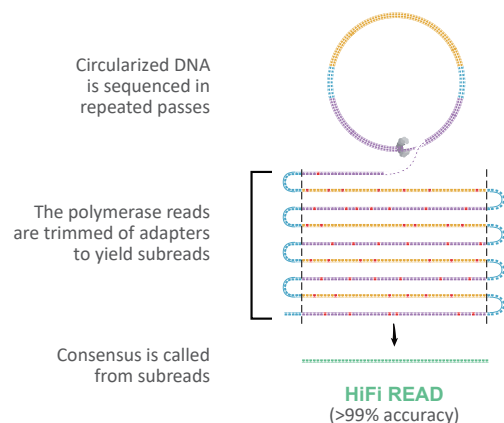
- ▶ HiFi reads (High-Fidelity reads) 提供高準確度且長讀長之序列，其準確度高達 QV20 (99%)
- ▶ 產生具有成為參考文獻的組裝結果 (Reference-quality assemblies)，提供高品質全基因體組裝。
- ▶ 目前動植物基因體組裝 N50 > 1Mb 已超過 300 個物種，微生物基因體組裝可實現 One Genome One Contig。
- ▶ 可偵測結構變異 (Structural Variations, SVs)，例如：SNVs (1 bp)、Indels (<50bp)、SVs (≥50 bp)。

建議規格

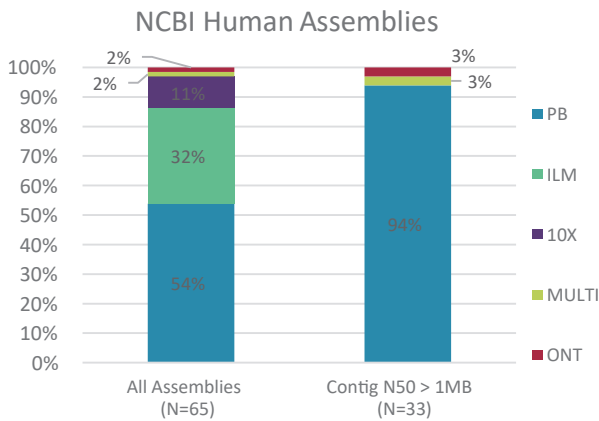
服務項目		物種	建議深度	建庫規格 (kb library)
De Novo assembly – HiFi Reads		不限物種	≥ 15X HiFi coverage	15-20
De Novo assembly – CLR mode		簡單基因組	40–50X CLR coverage	≥ 20
		複雜基因組	≥ 70X CLR coverage (每增加一倍體建議 + 40X)	≥ 20
Phased diploid assembly		人類	≥ 50X CLR coverage	≥ 20
SV detection	population genetics studies	人類	5–10X CLR coverage	≥ 20
	rare undiagnosed disease studies	人類	10–20X CLR coverage	≥ 20
	individual de novo SVs	人類	25X CLR coverage	≥ 20
Variant Detection (SNVs, InDels, SVs)		人類	≥ 15X HiFi coverage	15-20
服務項目		物種	數據量	建庫規格 (kb library)
Microbial WGS for De Novo assembly		微生物	≥ 1G	10 (Multiplex)



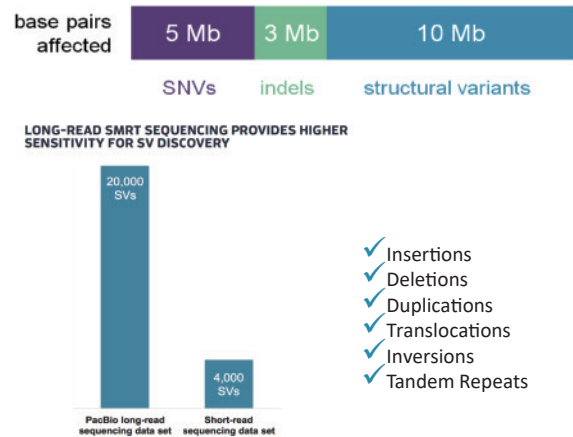
HiFi Reads 可以提供又長 (15 - 20Kb) 又準確 (≥ QV20) 的定序數據。



在定序過程中 SMRTbell 解開成環狀，DNA 聚合酶得以不斷繞圈形成多個 Passes，經過 CCS 分析，即可達到高品質之 HiFi Reads。



利用不同實驗平台來組裝人類基因體，PacBio 可以達到 94% 且 Contig N50 > 1 MB (N=33)。



PacBio 在 SV 的發現可以提供更高的解析度，約是短片定序系統的五倍。

實例分享：de Novo Assembly - HiFi Reads

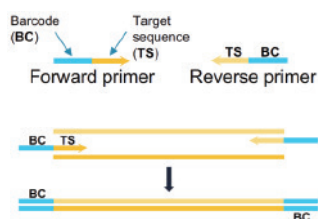
- ▶ 使用 HiFi Reads 進行 *de Novo Assembly* 已是黃金標準，使用兼具高準確度 (99%) 與長片段 (最長可達 25kb 建庫) 的策略，不僅可跨越基因體中重複序列，使複雜型或多倍體的基因體組裝不再是難事。
- ▶ 建議定序深度：≥ 15X HiFi coverage
- ▶ 目前使用 HiFi *de Novo Assembly* 的物種如下表，並持續增加中！



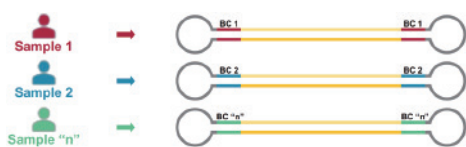
	California Redwood 加州紅杉	Rose 玫瑰	Oat 燕麥	Maize 玉米
基因體大小	27 Gb (6N)	400 – 750 Mb (2N – 5N)	11 Gb	2.5 Gb
建庫規格	25 Kb	11 Kb	17 Kb	17 Kb
HiFi Coverage	22X	89X	22X	20X
Contig N50	1.92 Mb	11 Mb	20.3 Mb	14.7 Mb
掃描 QR Code 觀看詳細資訊				

【Target Sequencing】目標區域定序服務

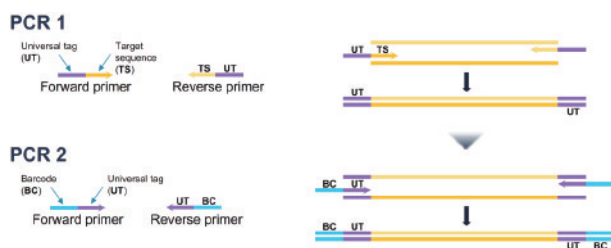
- ▶ 設計目標區域引子對 (Specific Target Region Primers) 來進行目標區域基因放大與定序，進行大量樣品的目標區域研究。依照實驗設計不同，可使用三種不同的混樣策略：PacBio Barcoded Specific Primers、PacBio Barcoded Adaptor (BOA) 或 PacBio Barcoded Universal Primers (BUP) 讓 Amplicon 連接上 Barcodes，可支援 100 bp ~ 10 kb 的目標區域建庫與定序，形成高準確度的 Subreads & CCS reads 進行分析。
- ▶ 針對特定區域之 Structural variant detection、Minor variant detection、SNPs...等研究。



1. PacBio Barcoded Specific Primers



2. PacBio Barcoded Adaptor (BOA)



3. PacBio Barcoded Universal Primers (BUP)

建議規格

Experimental Goals		Coverage (fold, X)	建庫規格
Full length consensus sequences		30X CCS coverage	依照 Amplicon Size 進行不同規格建庫 (100 bp - 10 kb library)
Minor variant detection	variants at 10% frequency	600X CCS coverage	
	variants at 5% frequency	1,200X CCS coverage	
	variants at 1% frequency	6,000X CCS coverage	
SNV Validation		100X CCS coverage per amplicon	

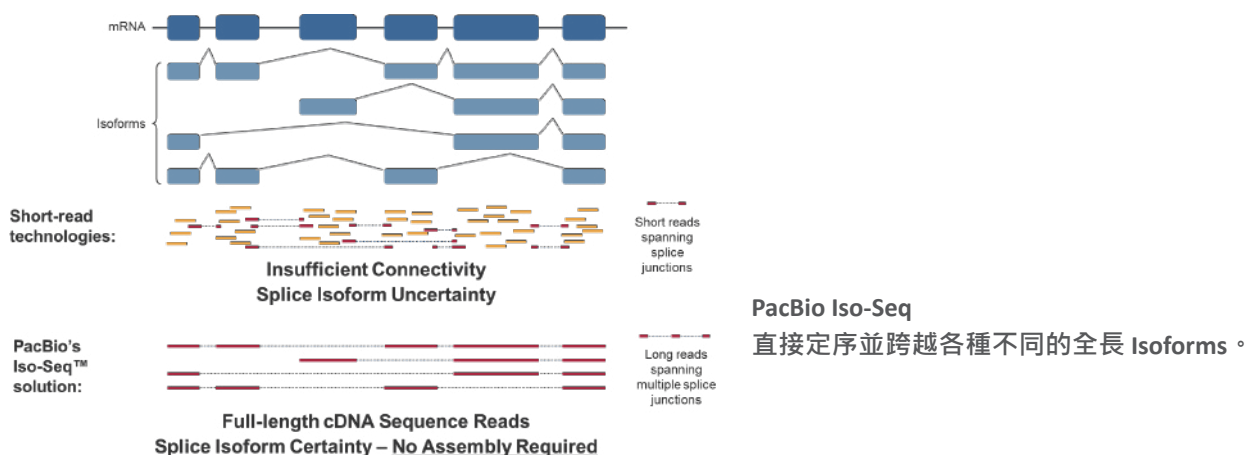
【Iso-Seq】全長轉錄組定序服務

Iso-Seq直接定序全長轉錄本 (full-length transcript) ，不須進行組裝，可以獲得多數 2 kb full-transcripts (Standard protocol) ，另外也可選做 > 3 kb 之長片段轉錄本定序或是 < 2 kb 之短片段轉錄本定序，藉由此法可以探測轉錄本之多樣性，以及發現新的轉錄異構體 (novel isoform) ，對於定性與建構資料庫來說擁有非常好的效果

研究目的與建議規格

Experimental Goals	Number of Sequel SMRT cell 1M LR	Number of Sequel II SMRT cell 8M*	建庫規格
Targeted, gene-specific isoform characterization	< 1 cell	≤ 1 cell	依照物種特性選擇 Standard: = 2kb Long: > 3kb Short: < 2kb Library
General survey of full-length isoforms in a transcriptome (moderate to high expression levels)	1-2 cells	≤ 1 cell	
A comprehensive survey of full-length isoforms in the transcriptome	1-2 cells	≤ 1 cell	
Deep sequencing for comprehensive isoform discovery and identification of low abundance transcripts	> 3 cells	≤ 1 cell	

* Sequel II 平台建議規格 30 Gb 起。



	Source	Platform	Protocol	Species	Cultivar / Organ	# of sequences	Average size (bp)
	RICD	Sanger	FL cDNA	O. s. indica	MH63 / various	12,727	643
	KOME	Sanger	FL cDNA	O. s. japonica	Nipponbare / various	37,132	1746
NGS short reads	AGI (unpubl.)	Illumina	RNA-Seq	O. s. japonica	Nipponbare / root	125,762	874
PacBio long reads	AGI	PacBio	Iso-Seq	O. s. indica	MH63 / leaf	73,288	2416
	AGI	PacBio	Iso-Seq	O. s. indica	ZS97 / leaf	22,856	2033

PacBio Iso-Seq 有更加精準且完整的全長 Isoforms 資訊。

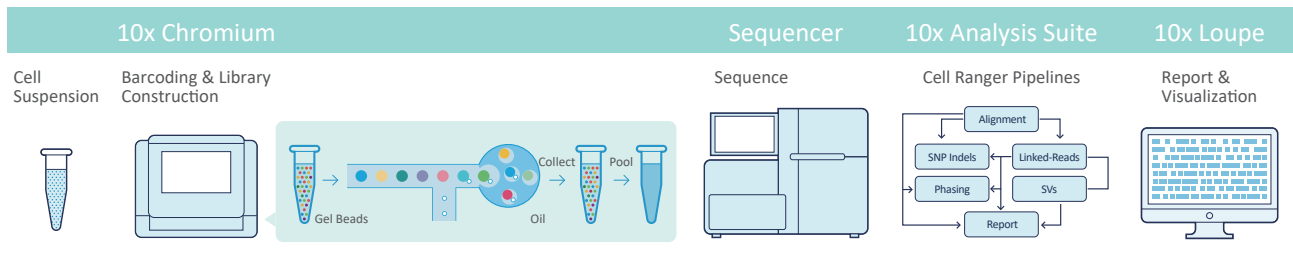
設備持續更新，提供給您更完整的『單細胞』服務方案

Chromium 是液流控制系統，可進行自動化的液體流動和油滴包覆，目的為實現將單個 Gel Beads 與單顆細胞包覆於油滴中。Gel Beads 是 10x 技術核心，每個 Gel Beads 都帶有獨特的核苷酸分子條碼，可用於單顆細胞的標定。

基米擁有 Chromium Controller & Chromium X 雙平台，可進行數千至百萬顆單細胞的包覆，從低至高通量一次滿足，可依據您的實驗需求，提供最全面的單細胞服務。

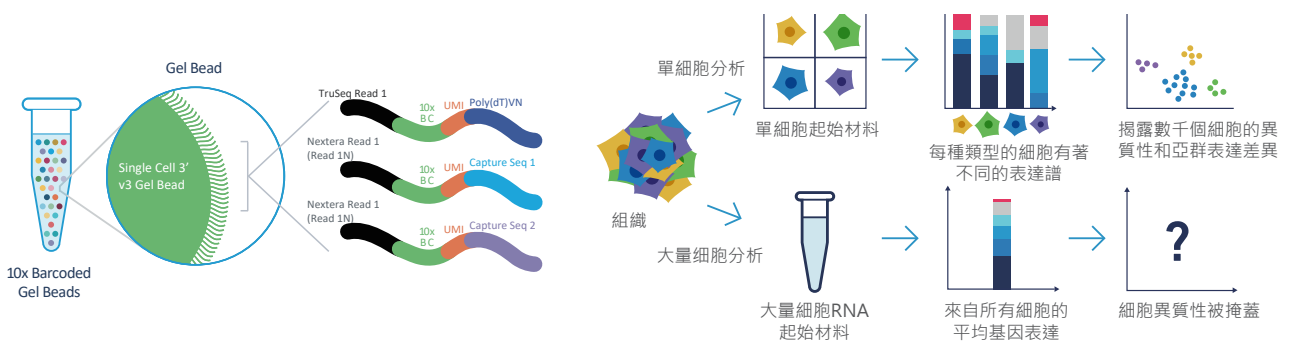


服務流程



【Single Cell RNA-Seq】

- ▶ 一次可捕獲 100 - 10,000 顆細胞，偵測其單細胞內的基因表現，可鑑別罕見的細胞類型。
- ▶ 揭示細胞異質性，可用於腫瘤微環境、胚胎發育、神經退化疾病...等研究。
- ▶ 定序深度建議：≥ 20,000 reads/cell
- ▶ 可搭配 Feature barcode 功能，在同一顆細胞同時檢測 RNA 和表面蛋白表現，增加細胞分群解析度。
- ▶ 樣本種類：新鮮細胞懸浮液、PBMC



Single cell 3' v3.1 Gel Beads 具有 feature barcoding，可同時進行 RNA-Seq 與表面蛋白偵測或 CRISPR Screening 應用。

每顆細胞內基因表達訊息不再被細胞群體整體平均數值所掩蓋

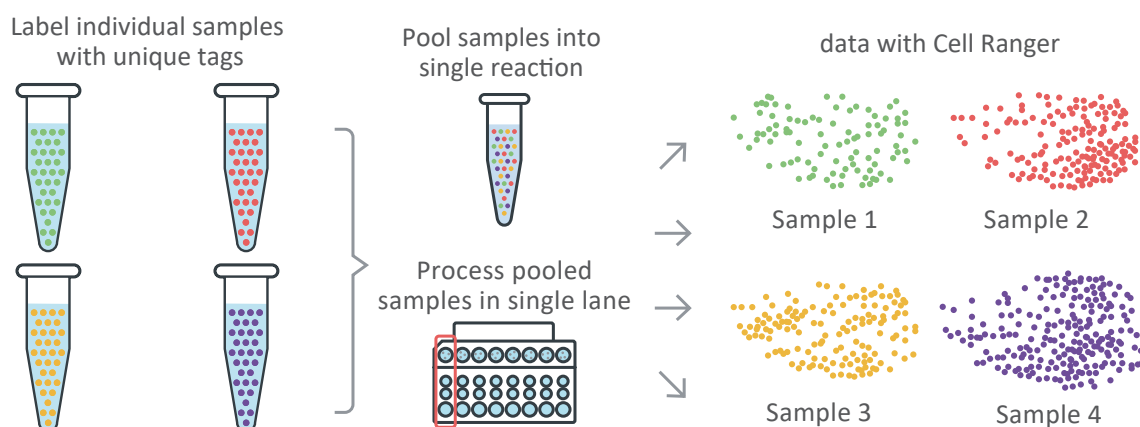
【Sample Multiplexing】

限用在 Single Cell 3' RNA-Seq 服務

- ▶ 最多可進行 12-plex 混樣，大幅降低單一樣本實驗成本
- ▶ 採用特殊細胞標定技術，不受物種限制
- ▶ 細胞或細胞核皆可適用

服務內容

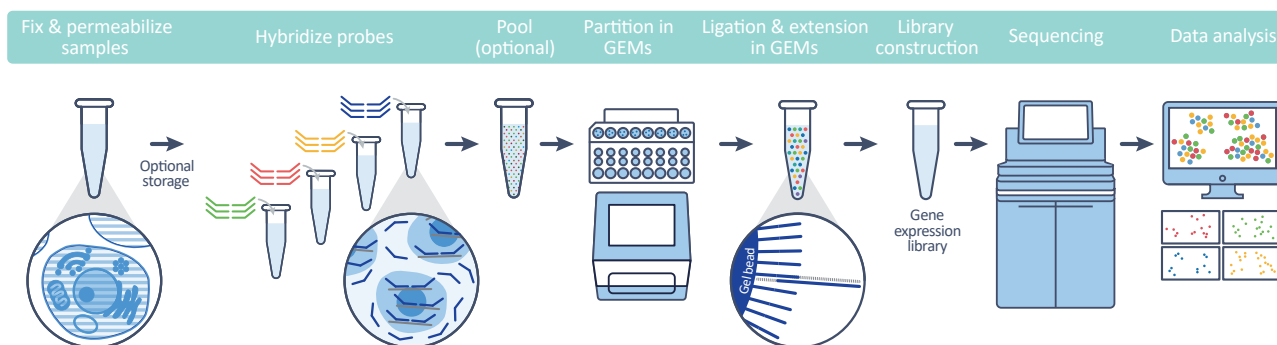
- + 細胞標定
- + 單細胞建庫與定序
- + 標準分析與解題



【Single Cell Fixed RNA Profiling】

NEW

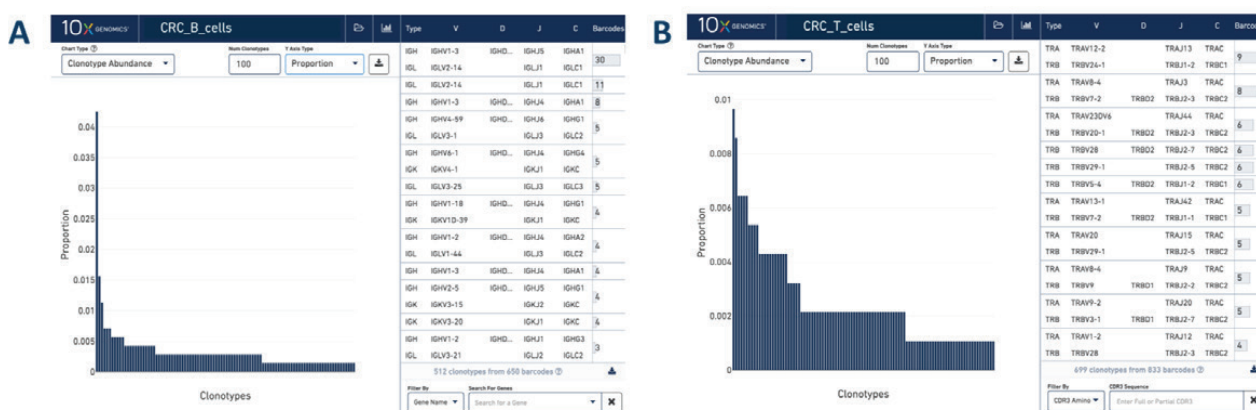
服務流程



- ▶ 樣本於採集後即先進行固定，不僅可保留細胞原始狀態且能保護較脆弱的樣本
- ▶ 固定後的樣本可儲存，待樣本皆製備完成，再一次進行上機，降低批次效應
- ▶ 實驗規劃更具彈性，不受時間約束，簡化工作流程
- ▶ 採用探針雜交方式，可在同一個 channel 進行多個樣本混樣，最高可進行百萬顆單細胞轉錄組實驗
- ▶ 適用於人類與小鼠樣本
- ▶ 此服務僅限用於 Chromium X

【Single Cell Immune Profiling】

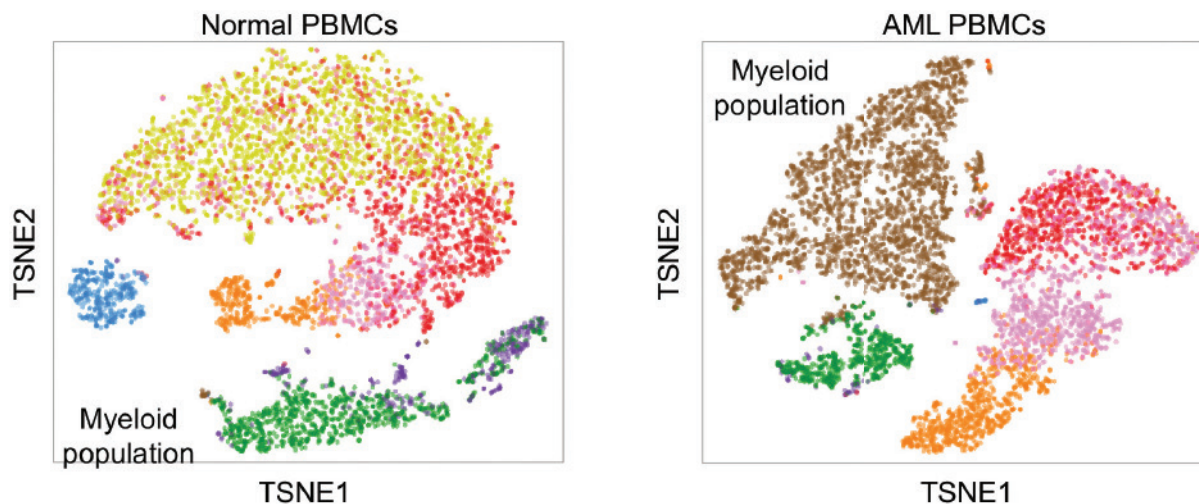
- ▶ 一次實驗可同時進行單細胞 RNA-Seq 與免疫細胞型別多樣性 (immune repertoire) 研究。
- ▶ 提供人類與老鼠的 TCR / BCR 高通量檢測方案。
- ▶ 可用於探索腫瘤微環境、自體免疫疾病發病機制探討、臨床移植後追蹤等應用。
- ▶ 定序深度建議：V(D)J Library $\geq 5,000$ reads/cell, 5' RNA Library $\geq 20,000$ reads/cell
- ▶ 樣本種類：新鮮人或老鼠細胞懸浮液、PBMC



10x Loupe V(D)J Browser：圖形化呈現 Clonotype 比例與多樣性

【Loupe Browser】

專員到府結題與教學、非生資人員也能輕易上手

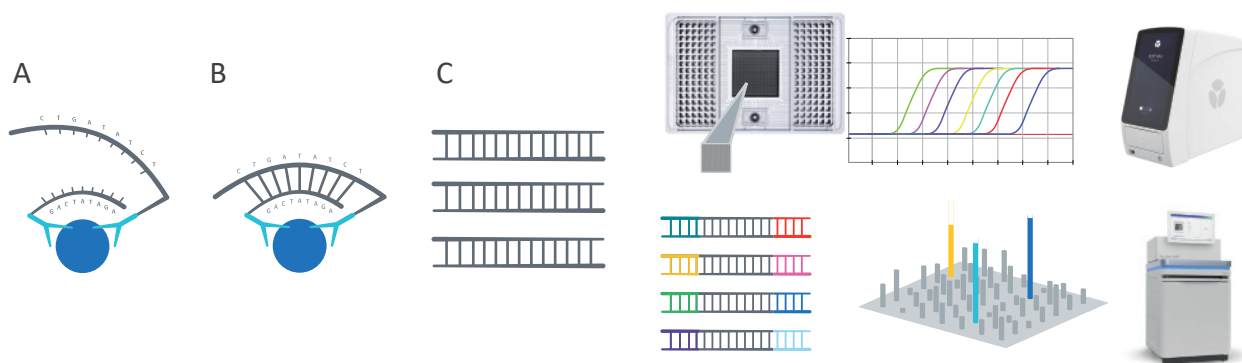


視覺化呈現細胞分群結果

【Olink™ Proteomics】蛋白質體學高通量檢測服務

本服務為使用創新 PEA (Proximity Extension Assay) 技術，可在 1-8 μl 樣本中精確檢測 21-3,072 種蛋白質。幫助研究人員精準地篩選出蛋白標記物 (Protein Biomarker Discovery)，更可以整合次世代定序數據，加速藥物開發過程、改善疾病的預測與檢測，進而達到精準醫學目標。

PEA 技術原理



- 每一種蛋白皆設計雙抗體辨認，且抗體上均有獨特的 DNA 序列條碼
- 當抗體與目標蛋白結合後，鄰近的兩條 DNA 鏈會互補並延伸，生成新的 DNA 分子模板
- 再透過 qPCR 或 NGS 技術平臺進行核苷酸序列檢測



PEA 動畫

技術優勢

高專一性

PEA 獨特設計，避免非特異性結合影響。

覆蓋度廣

搭配 NGS 技術，可同時檢測約 3,000 種蛋白。

樣本需求量少

僅需 1-8 μl 檢測體積。

樣本類型多樣化

血清/血漿、腦脊髓液、組織裂解液...等。

嚴格的品質控制

具 internal control，監控實驗品質。

完整的效能驗證

每一套組皆有完整的優化，並通過嚴格的驗證。

代表文獻

- Zhong W, Edfors F, Gummeson A, et al. Next generation plasma proteome profiling to monitor health and disease. *Nature Communications*. 2021.
- Remsik J, Wilcox J, Babady NE, et al. Inflammatory leptomenigeal cytokines mediate COVID-19 neurologic symptoms in cancer patients. *Cancer Cell*. 2021.
- Rozeman E, Hoefsmit E, Reijers I, et al. Survival and biomarker analyses from the OpACIN-neo and OpACINneo adjuvant immunotherapy trials in stage III melanoma. *Nature Medicine*. 2021.

NGS 樣品送樣須知與服務流程說明



提供專員
溝通諮詢



樣本允收
標準說明



樣本收件
QC檢測

- ▶ 客戶送樣前請和當區業務進行實驗討論，並詳讀本公司NGS實驗室所訂立的「**基龍米克斯送件樣品訊息單 GBST-NGS-SI-01**」與「**基龍米克斯定序服務收樣標準表 GBST-NGS-SI-02**」，此兩份文件請向當區業務索取。

樣品送樣須知

- ▶ 確認樣品之總量、品質、濃度、體積須符合該實驗項目之建庫允收標準，其標準請參閱「**基龍米克斯定序服務收樣標準表 GBST-NGS-SI-02**」。
- ▶ 填妥「**基龍米克斯送件樣品訊息單 GBST-NGS-SI-01**」，清楚載明單位、實驗室主持人、聯絡人、聯絡方式、樣品類型、萃取方式、實驗項目與樣品數量。
- ▶ 將樣品訊息單與樣品裝入夾鏈袋或堅固容器封裝，必要時加入緩衝物質避免碰撞造成樣品損壞，將樣品與適當且足量之保冷材料放入「**保麗龍箱**」中運送至本公司 NGS 實驗室。

樣品類型	保冷材料	運送方式
gDNA, FFPE DNA	冰保、乾冰+冰保	冷藏、冷凍
Amplicon, Library, cDNA	乾冰+冰保	冷凍
RNA	乾冰	冷凍

- ▶ 本公司 NGS 實驗室將依照客戶填寫之「**基龍米克斯送件樣品訊息單 GBST-NGS-SI-01**」，根據不同樣品類型與預計執行之實驗項目，進行適當的檢測實驗。
- ▶ 根據 NGS 實驗室之檢測結果，由專業人員判定核酸品質，並給予檢測報告，通過檢測之樣品建議於一個月內啟動定序為佳。詳細判定內容與建議請依檢測報告為主。

樣品類型	濃度測定	核酸完整度
Intact DNA (Genomic DNA)	Qubit, Nanodrop	毛細管電泳系統
Smear DNA (FFPE, cfDNA...etc)	Qubit, Nanodrop	毛細管電泳系統
Amplicon	Qubit, Nanodrop (Optional)	毛細管電泳系統/ 瓊脂膠體電泳系統
Library	Qubit	毛細管電泳系統
RNA	Nanodrop	毛細管電泳系統
Cell	Countess™ II Automated Cell Counter	N/A



確認啟動
服務項目

- ▶ 根據 NGS 實驗室檢測報告，樣品檢測合格者，請和負責業務接洽進入定序服務委託程序，經「簽署客戶同意書」後即正式啟動；樣品檢測不合格者，將通知重新送樣，或簽署客戶同意書確認承擔風險，本公司不保證異常件之定序結果。



生資團隊
數據分析

- ▶ 委託生資分析服務前請和當區業務進行方案討論，並詳讀本公司 NGS 生物資訊部所訂立的「**基龍米克斯生物資訊分析各品項說明 GBST-BFX-01**」。並依照不同實驗項目的需求，填妥文件「**基龍米克斯生物資訊分析需求單與比對方案 GBST-BFX-02.03**」，上述二份文件請向當區業務索取。



分析報告
結題說明

- ▶ 生資分析報告將以下載連結方式提供，請注意下載時效，建議盡速完成檔案下載。若需專人結題說明，歡迎聯絡當區業務安排。

非常感謝您選擇基米 NGS 服務，若您的研究成果刊登於學術期刊中，歡迎分享至 support@genomics.com.tw，讓我們一同分享您的成果喔！
只要您在材料與方法 / 致謝 / 文章內容中提及「Genomics BioSci. & Tech.」
將有神秘優惠回饋給您！

台北

📍 221 新北市汐止區新台五路一段 100 號 14 樓

☎ 886-2-2696-1658

🏠 www.genomics.com.tw

☎ 886-2-2696-1589

✉ support@genomics.com.tw

台中

📍 403 台中市西區自由路一段 101 號 15 樓之5

☎ 886-4-2225-0702

☎ 886-4-2225-9496

高雄

📍 807 高雄市三民區九如一路 502 號 5 樓之 3 (A5)

☎ 886-2-2696-1658 轉 320

☎ 886-7-380-3570



GENOMICS

BIOSCI. & TECH. CO., LTD.

基龍米克斯 生物科技股份有限公司



官方網站



F B 粉絲團



I G 粉絲



LINE@ 好友