

Let's Go

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
Differential Gene Expression (DGE) 8
Small RNA-Seq 9
Long non-coding RNA-Seq (LncRNA-Seq) 10
Prokaryotic Transcriptome 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 22
Cellplex 22
Single Cell Gene Expression Flex 23
Single Cell Immune Profiling 23
生資分析 24

Olink™ Proteomics 25

蛋白質體學高通量服務 25

附錄 28

送樣須知與注意事項 28

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

設備

illumina
二代定序PacBio
三代定序10x
單細胞應用Olink
蛋白質應用

- NovaSeq X Plus
- NovaSeq 6000
- NextSeq 500
- MiSeq
- 10x Chromium X
- 10x Chromium Controller
- Olink Signature Q100
- Sequel system series
- 560 核心機房與高速雲端運算平台

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)
- Prokaryotic Transcriptome
- Single Cell RNA-Seq / Immune Profiling
- Others



Protein

- Olink Proteomics

服務流程

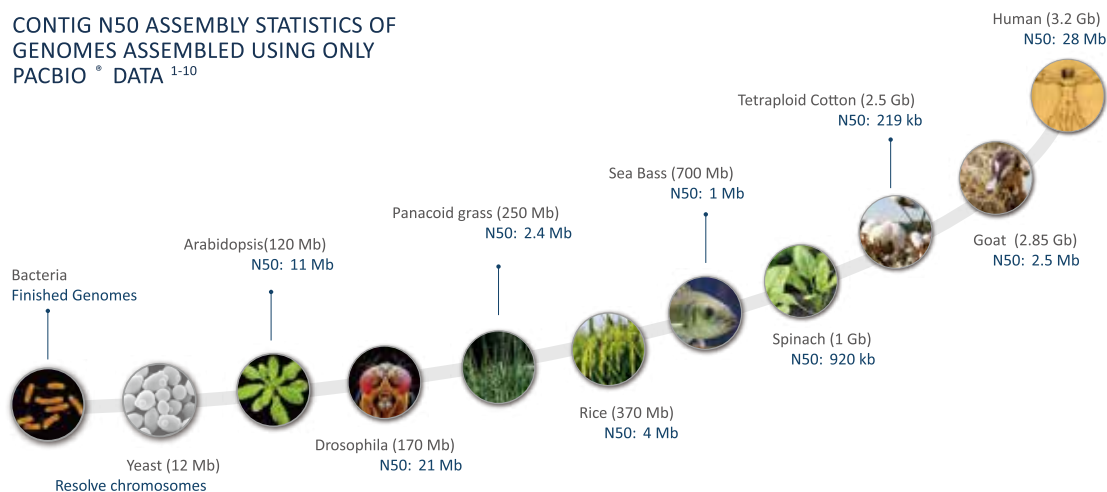
提供專員
溝通諮詢樣本允收
標準說明樣本收件
QC 檢測確認啟動
服務項目實驗團隊
建庫定序生資團隊
數據分析分析報告
結題說明

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

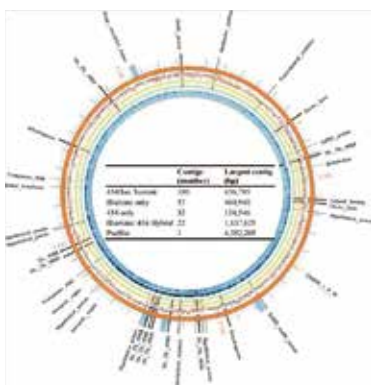
建議定序深度：≥ 15X HiFi coverage

詳細介紹請參閱 PacBio 章節 (P.15)

微生物基因體組裝 / 小基因體組裝

細菌使用 PacBio 組裝可達到 One Genome One Contig

建議定序數據量：≥ 1Gb ± 10% raw data



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

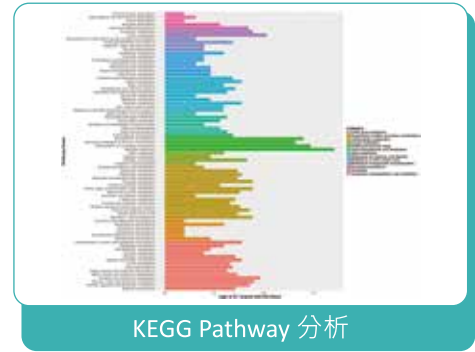
- ▶ 原始數據品管 (Reads Quality Filtering)
- ▶ 基因體組裝 (Genome Assembly)

以下分析僅提供於「細菌」組裝服務

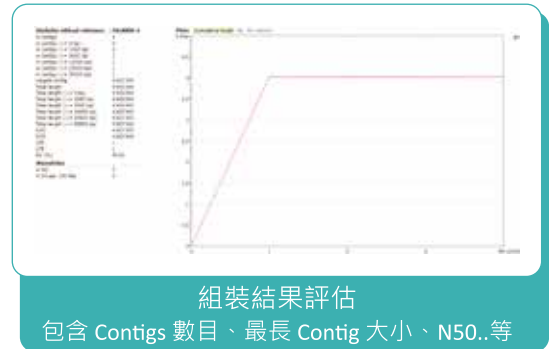
- ▶ 基因預測 (Gene Prediction)
- ▶ 註解 (Annotation)
 - 核苷酸比對 (Contig annotation) : BlastN
 - 蛋白質比對 (Functional annotation) : BlastP / BlastX
- ▶ 蛋白質功能性分析進階分析 (Functional Analysis)
 - COG資料庫
 - GO資料庫
 - KEGG資料庫
 - 抗藥基因資料庫
- ▶ 染色體圖譜



微生物基因組圖譜

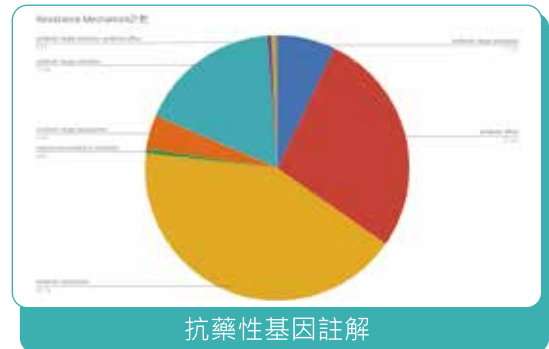


KEGG Pathway 分析



組裝結果評估

包含 Contigs 數目、最長 Contig 大小、N50..等



抗藥性基因註解

參考文獻

1. *Telomere-to-Telomere* (T2T) 聯盟採用 PacBio HiFi 長片段定序技術，發布第一個人類完整基因體序列 - CHM13 v1.1
Sergey Nurk, et al. The complete sequence of a human genome. *Science* **376**, 44-53. (2022)
2. 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)



論文連結

【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
WGS	建議深度	30X	詳見 P. 17
	建庫定序規格	Shotgun library, 150PE	≥ 10kb 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)

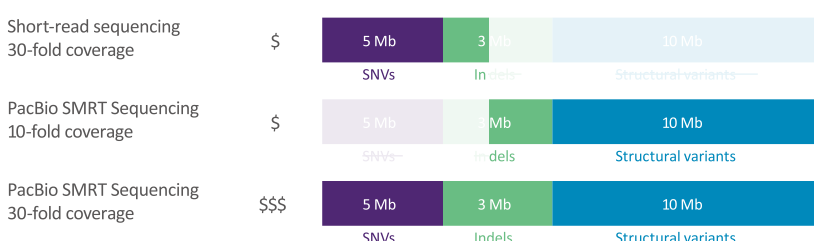


Illumina TruSight Panel
(Probe-based)

WGS Method

Cost

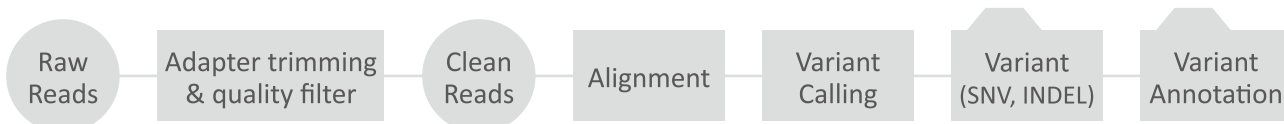
Variants in the Human Genome



Illumina 與 PacBio 可偵測的 DNA 變異

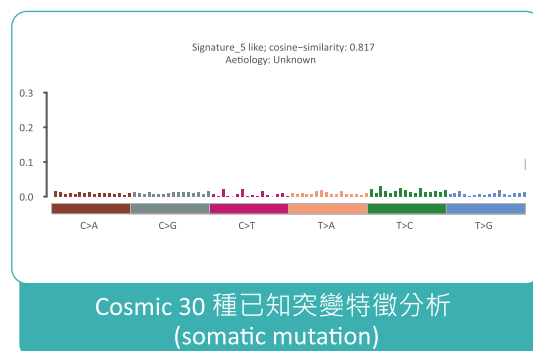
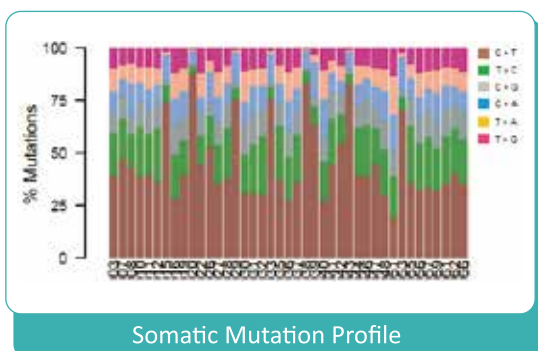
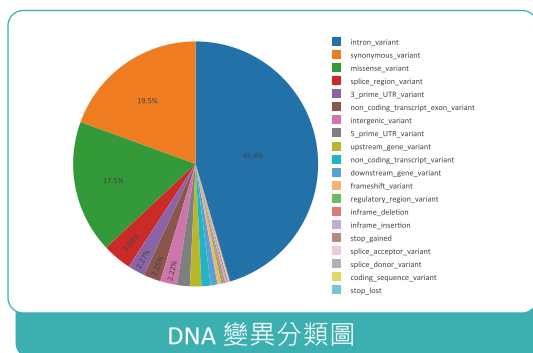
	illumina	PacBio
SNPs	✓	✓
InDel	✓	✓
Duplication	✗	✓
Translocation	✗	✓
Inversion	✗	✓
Tandem Repeat	✗	✓

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)
 - GATK
 - DRAGEN
- ▶ 變異點註解 (Variant Annotation)



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

加
值
服
務



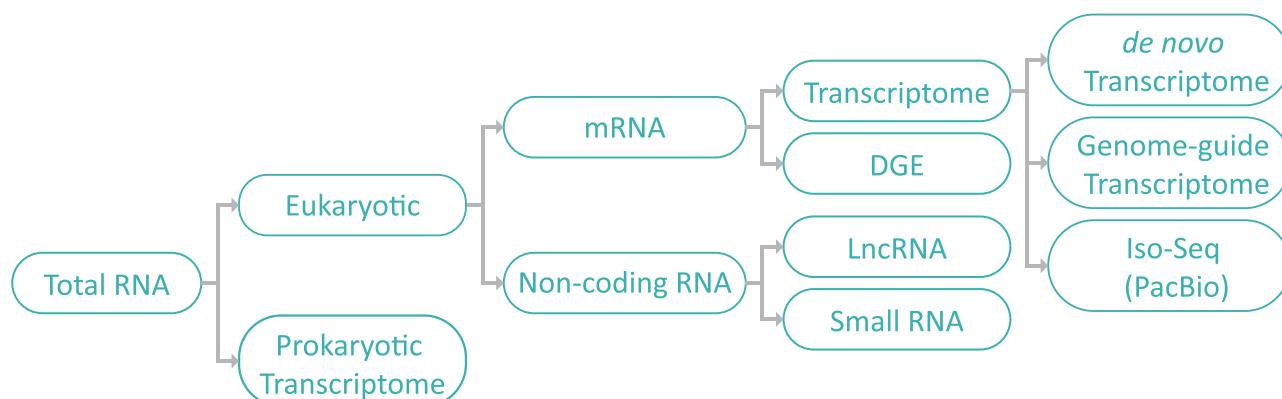
InheriNext
全外顯子基因檢測方案

- ▶ 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

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 IIe	詳見 P.20	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
Prokaryotic Transcriptome	Y	原核生物**	Illumina NovaSeq	150 PE ≥ 10 M reads	基因表現量分析、基因差異表現、基因功能的差異表現

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

** The species database of small RNA should be searched at NCBI / Genome 2D / KEGG database.

【Transcriptome】轉錄組定序服務

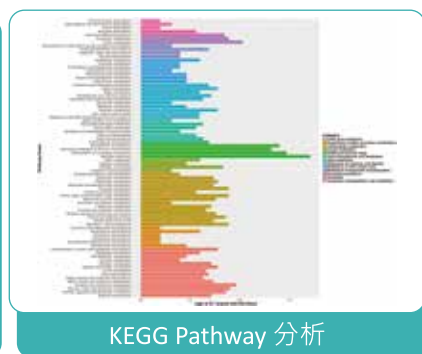
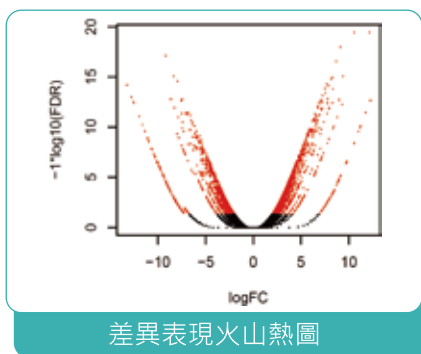
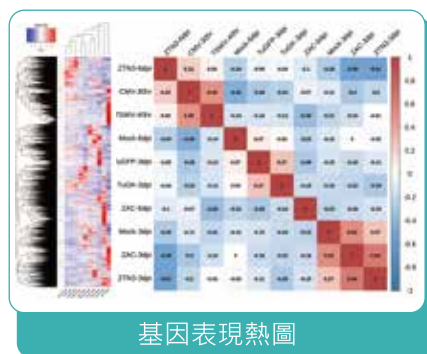
探討基因表達及基因序列的主要工具，能夠獲得特某一組織或器官在特定狀態下所有轉錄組序列資訊，需透過**組裝**的方式，取得所有轉錄組序列資訊，廣泛應用於基礎研究、臨床診斷和藥物研發等領域。

平台優勢

價格便宜且通量高，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



【 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

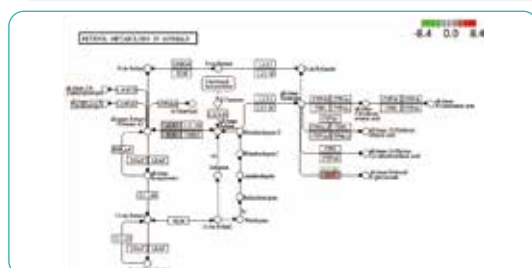
採用鍊特异性建庫方式 (strand-specific mRNA)，價格便宜且通量高，可針對回貼到的 genes / isoforms 完成差異表達分析。若樣品類型屬於人類 FFPE RNA，另可選擇 RNA exome 建庫法，利用探針系統抓取 exome 區域，在品質條件較差的 RNA 樣品仍有機會執行差異表達分析。

標準分析內容

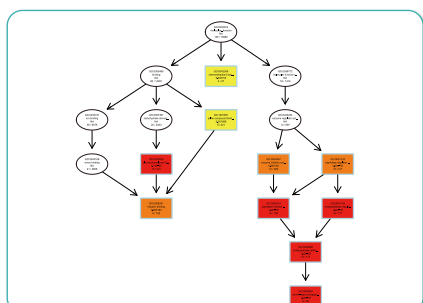
- ▶ 原始數據品管 (Quality Filtering)
- ▶ 基因表現量分析
- ▶ 基因差異表現
- ▶ 基因功能的差異表現
 - GO 富集分析
 - KEGG 富集分析
 - DO 富集分析 (僅適用於人類)



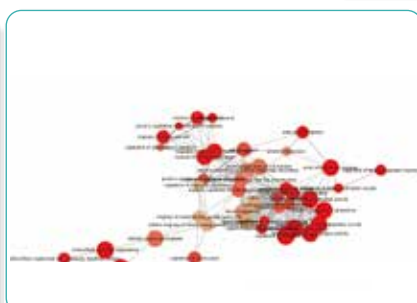
基因表現差異總表



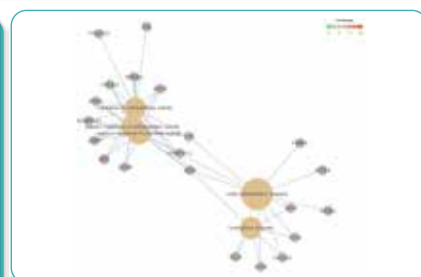
差異表現基因之 KEGG 代謝途徑分析



GO DAG 階層關聯性分析



EnrichMap: GO 富集關聯網絡圖



Cnetplot
基因功能和基因差異表現間的關聯網絡圖

基米
首創

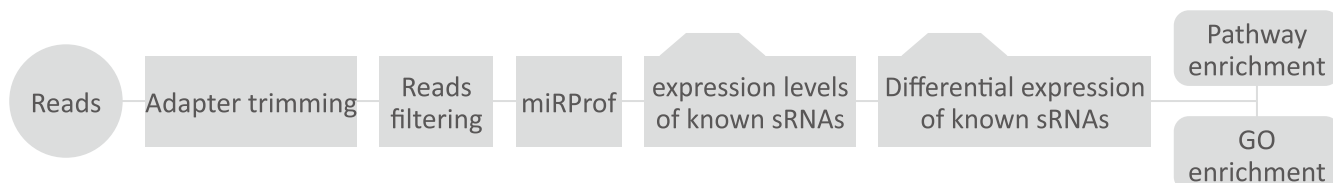
DGE 線上小教室

採用基米分析服務，即可索取報告解說連結，分章節說明，輕鬆學習好理解！

【Small RNA-Seq】微小 RNA 定序服務

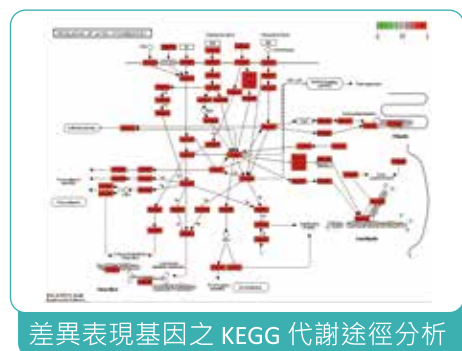
Small RNA 長度約 18-30 nt，主要功能為調控生物體之轉錄後修飾，利用序列專一性的基因沉默作用 (RNA silencing) 調節基因表現，進而調控細胞生長發育與生理過程。此法用來發現新的 miRNA、偵測 miRNA 表現量、預測 miRNA 所調控的基因位置 (gene target site)。

分析流程



標準分析內容

- 原始數據品管 (Quality Filtering)
- miRNA 表現量偵測 (miRNA Expression)
- miRNA 表現差異 (miRNA Differential Expression)
- 標靶基因預測 (Target Prediction)
- 基因功能的差異表現
 - GO 富集分析
 - KEGG 富集分析



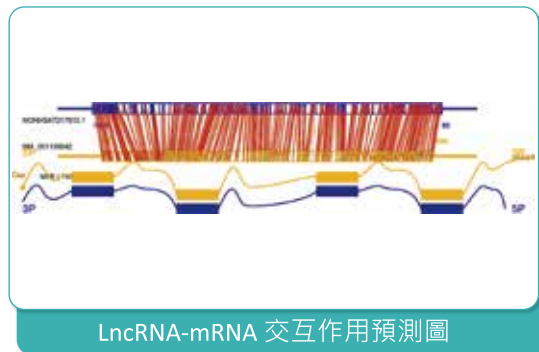
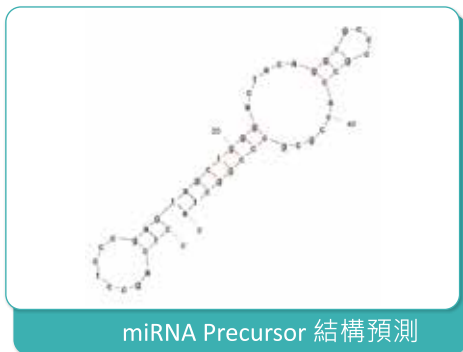
【 Long non-coding RNA-Seq (LncRNA-Seq) 】

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)

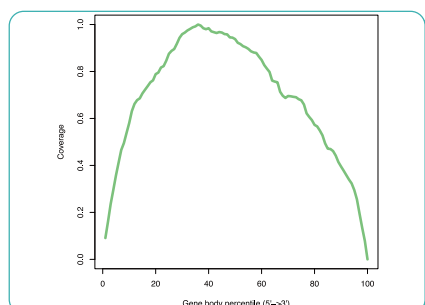


【Prokaryotic Transcriptome】原核轉錄組定序服務

原核轉錄組是針對原核生物 (例如：細菌) 所設計的轉錄組研究，原核生物在不同的環境或時期會展現出基因表現差異，藉此因應環境變化。將 Total RNA 移除 rRNA 後進行鍊特异性建庫，可獲得原核生物所有轉錄體之定序結果，分析基因表現差異和結構訊息，進一步理解原核生物功能。

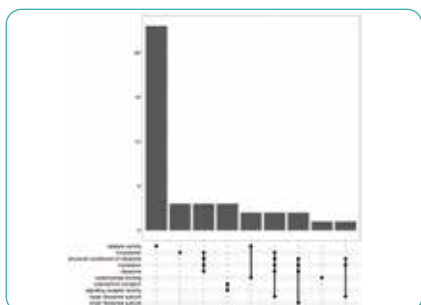
標準分析內容

- 原始數據品管 (Quality Filtering)
- 參考基因組序列比對
- 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

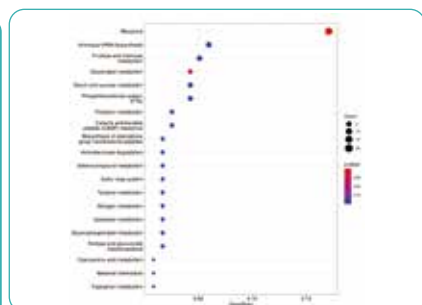


基因覆蓋分布

觀察有無 RNA 片段化偏向性或 PCR 偏向性



GO 富集分析

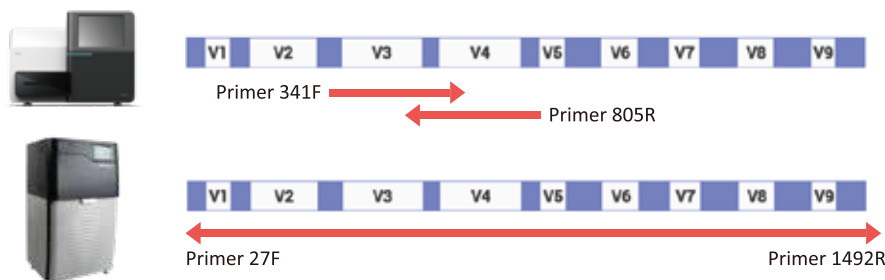


KEGG 富集分析

【16S rDNA Sequencing】16S rDNA 定序服務

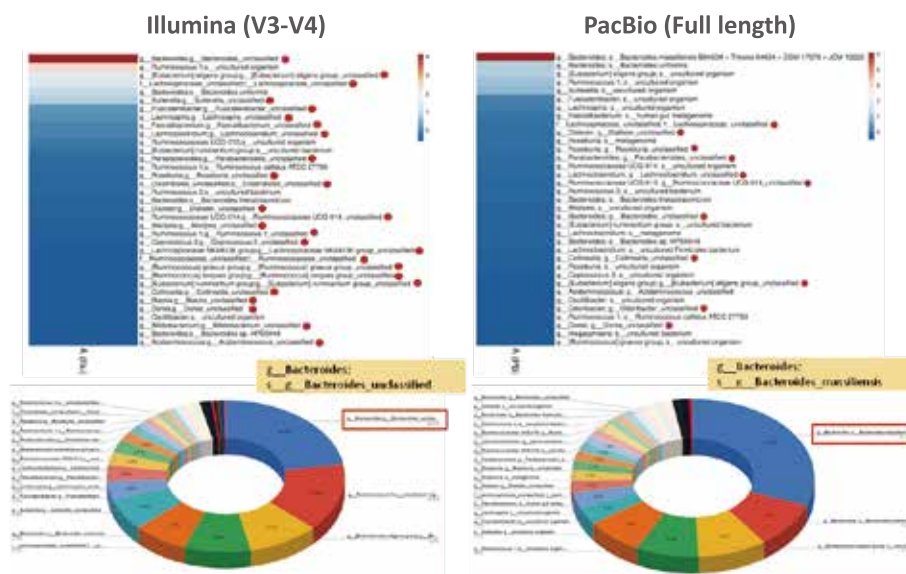
應用

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！

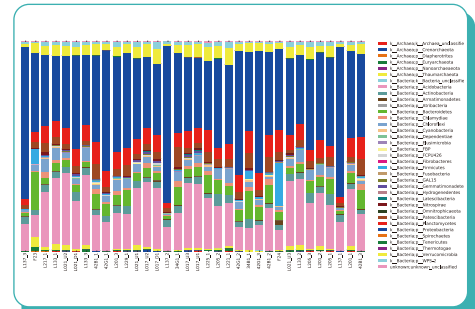
定序平台	定序儀	定序區域	建議深度
PacBio	Sequel IIe	V1-V9 (約 1.5K 全長)	20,000 ± 10% HiFi reads
Illumina	MiSeq 300PE	V3-V4 (約 460 bp)	50,000 ± 10% clean reads



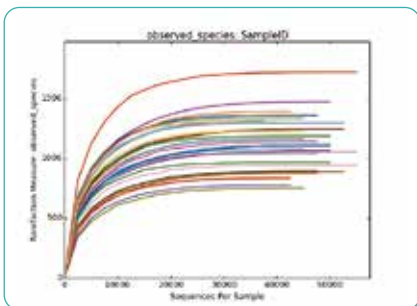
使用相同人體糞便樣品分別執行 Illumina (V3-V4) 與 PacBio 全長 (V1-V9) 16S 定序，兩種定序策略所得結果如上：兩定序策略在屬 (Genus) 層級之 TOP 35 物種比例分布相似，但在種 (Species) 層級的物種分類結果，PacBio 全長 (V1-V9) 能夠提供更準確的菌相解析度。紅點：species unclassified。

標準分析內容

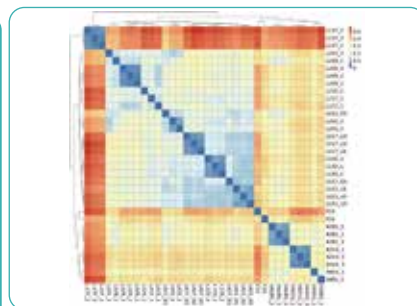
- ▶ 原始數據品管
- ▶ ASV (Amplicon Sequence Variant) 與豐度分析
- ▶ 菌種鑑定與註釋
- ▶ 菌種豐富度分析
 - α 多樣性分析：單一標本內的物種豐富度與物種均勻度之指標
 - β 多樣性分析：任意兩標本間的多樣性
- ▶ 組間差異進階統計分析 (如：PCA、PCoA、NMDS、UPGMA、LefSE、ANOSIM、MRPP、DCA、CCA、RDA、function)



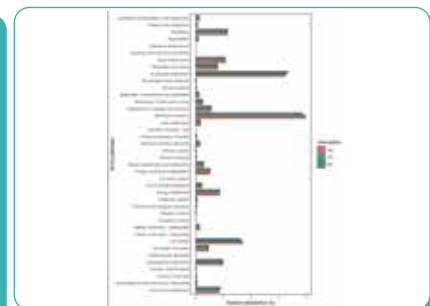
菌相豐富度分析



α 多樣性分析



β 多樣性分析

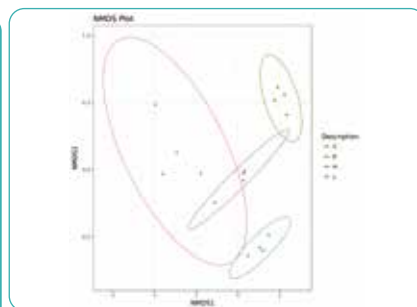


KEGG Pathway 分析



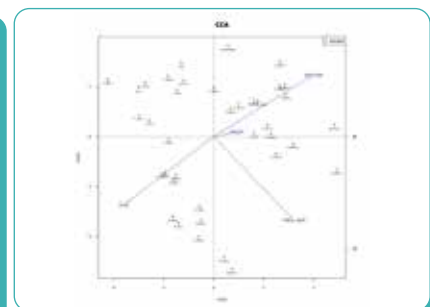
LefSE

發現高維生物標記和篩選基因組的特徵



NMDS Plot

透過降維來了解標本間的差異程度



CCA

反映物種或功能與環境因子間的關係

基米
首創

16S 線上小教室

採用基米分析服務，即可索取報告解說連結，分章節說明，輕鬆學習好理解！

【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

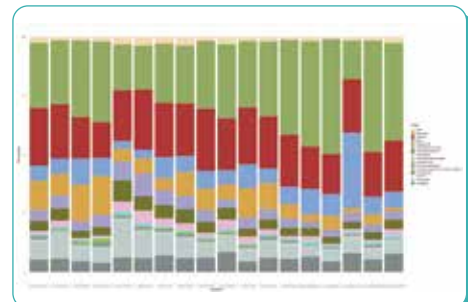
定序平台	定序儀	建議數據量
Illumina	NovaSeq 150PE	≥ 10 Gb

標準分析內容

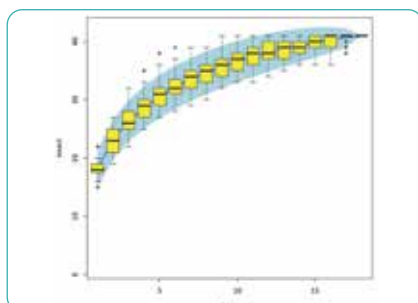
- ▶ 原始數據品管 (Quality Filtering)
- ▶ 基因體組裝 (Assembly)
- ▶ 序列分群 (Binning)
- ▶ 基因預測 (Gene Prediction)
- ▶ 物種註釋 (Species Composition)
- ▶ 菌種豐富度分析
 - α 多樣性分析
 - β 多樣性分析
- ▶ 組間差異進階統計分析 (如：PCA、PCoA、NMDS、UPGMA、LefSE、ANOSIM、MRPP、DCA、CCA、RDA、Function)
- ▶ 功能資料庫分析

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

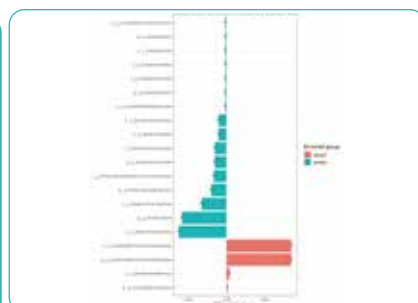
組裝相關統計表



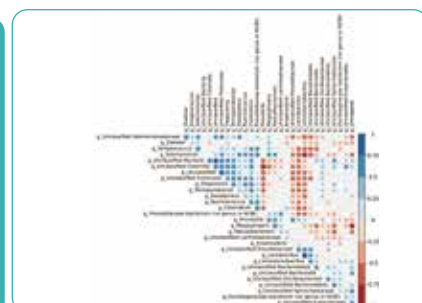
物種組成柱狀圖



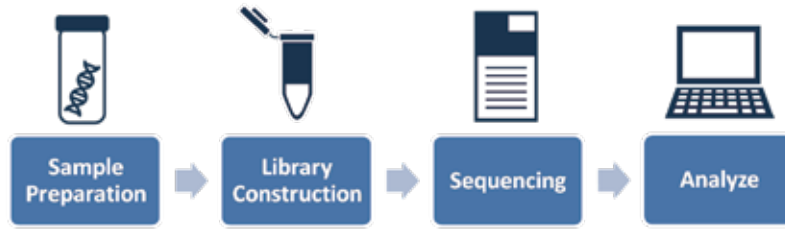
物種累積曲線
用於評估定序樣品數量是否充足



Welch's t-test
檢定兩組獨立資料中是否有顯著差異



物種相關性分析
挑選前 30 個高豐度物種觀察其關聯性



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。

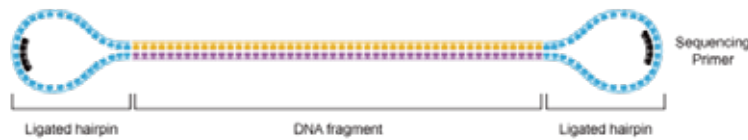


技術原理



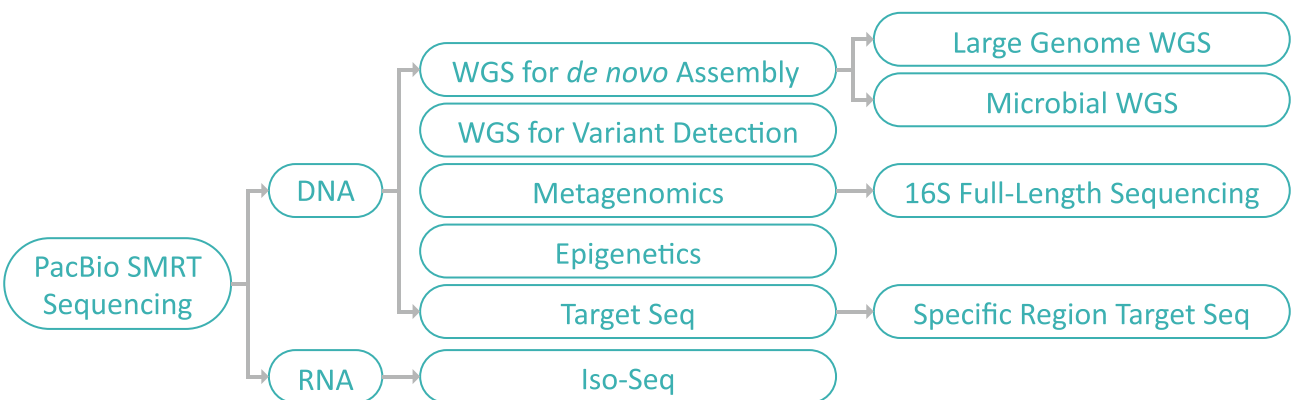
實驗建議

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



產品優勢

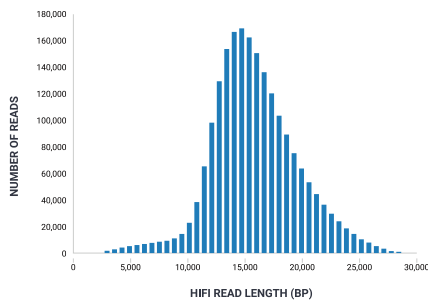
- ▶ 超長讀長：HiFi read 長度可達 ≥ 15 kb。
- ▶ 準確度高：無系統性錯誤 (Free of systemic errors)，準確度可達 QV50 (>99.999%)。
- ▶ 單分子即時定序：SMRTbell 解開成環狀定序，可形成高準確度 (QV30) 之 HiFi Reads。
- ▶ 均勻覆蓋度 (Uniform Coverage)：定序過程無須 PCR，可順利通過複雜度高的困難序列 (例：GC-rich 區域)。



定序平台規格

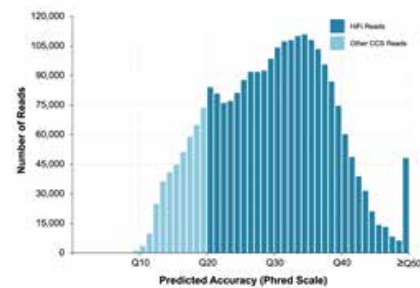
	Sequel IIe system	Sequel system
SMRT Cell 規格	SMRT Cell 8M	SMRT Cell 1M (LR)
準確度 > 99% HiFi Reads 之數量*	Up to 4,000,000	Up to 500,000
每片Cell 參考輸出量	約 15 Gb HiFi data*	約 8 Gb (1M cell) 約 18 Gb (1M LR cell)

*Number of HiFi reads and data throughput are dependent upon the insert size and sample quality.



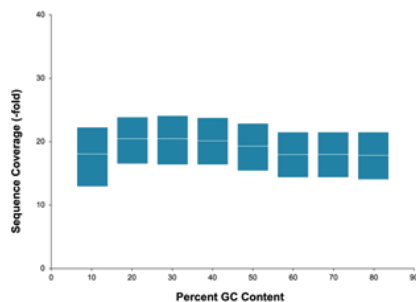
定序讀長與序列條數分布圖

Data from a 15 kb size-selected human library using the SMRTbell express template prep kit 2.0 on a Sequel IIe system (2.0 chemistry, Sequel IIe system software v10, 30-hour movie).



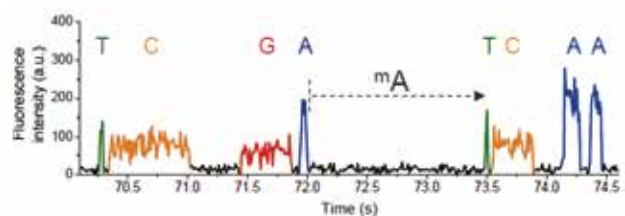
HiFi reads 具有高準確度 (QV50)，更勝其他 CCS reads。

Data from a 15 kb size-selected human library using the SMRTbell express template prep kit 2.0 on a Sequel II system (2.0 chemistry, Sequel II system software v10, 30-hour movie).



不同 % GC 比例的基因體序列片段，能夠維持穩定的覆蓋度。

Mean coverage per GC window across a human sample. Data generated with a 20 kb HiFi library on a Sequel II system (2.0 chemistry and Sequel II system).



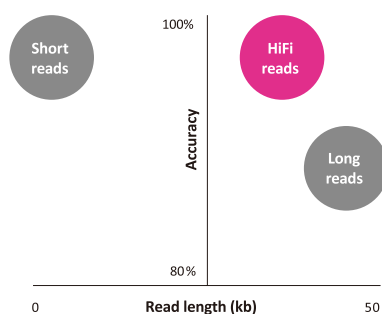
有修飾的鹼基在 DNA 聚合反應的速率較慢，在定序過程中可同時偵測鹼基修飾，應用在 Epigenetics。

【Whole-Genome Sequencing / HiFi *de novo* Assembly】

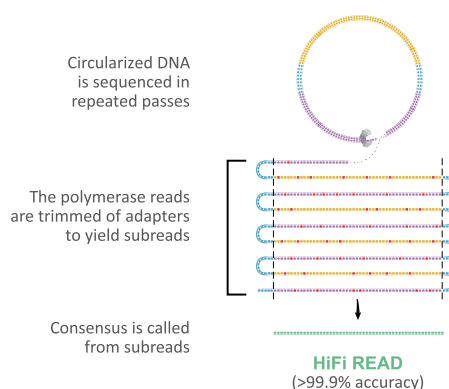
- ▶ HiFi reads (High-Fidelity reads) 提供高準確度且長讀長之序列，其準確度高達 QV30 (99.9%)
- ▶ 產生具有成為參考文獻的組裝結果 (Reference-quality assemblies)，提供高品質全基因體組裝。
- ▶ 目前動植物基因體組裝 N50 > 1Mb 已超過 300 個物種，細菌基因體組裝可實現 One Genome One Contig。
- ▶ 可偵測結構變異 (Structural Variations, SVs)，例如：SNVs (1 bp)、Indels (<50bp)、SVs (≥50 bp)。

建議規格

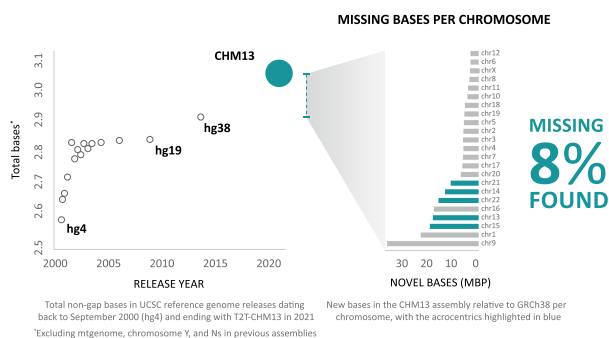
服務項目	物種	建議深度	建庫規格
HiFi <i>de novo</i> assembly	不限	≥ 15X HiFi coverage	15-18 kb
Microbial WGS for <i>de novo</i> assembly	微生物 / 細菌	≥ 1G ± 10% raw data	10 kb (Multiplex)



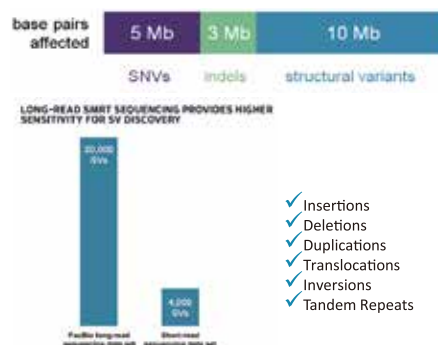
HiFi Reads 可以提供又長 (15-25Kb) 又準確 (≥ QV30) 的定序數據。



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。











T2T 聯盟發表的人類基因體 CHM13 版本組裝出 3.05 Gb，是目前最完整且無缺口的人類基因體，和 GRCh38.p13 版本相比，找到 8% (約 182 Mbp) 全新序列並校正錯誤序列，解開了長期無法被探索的區域。



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。

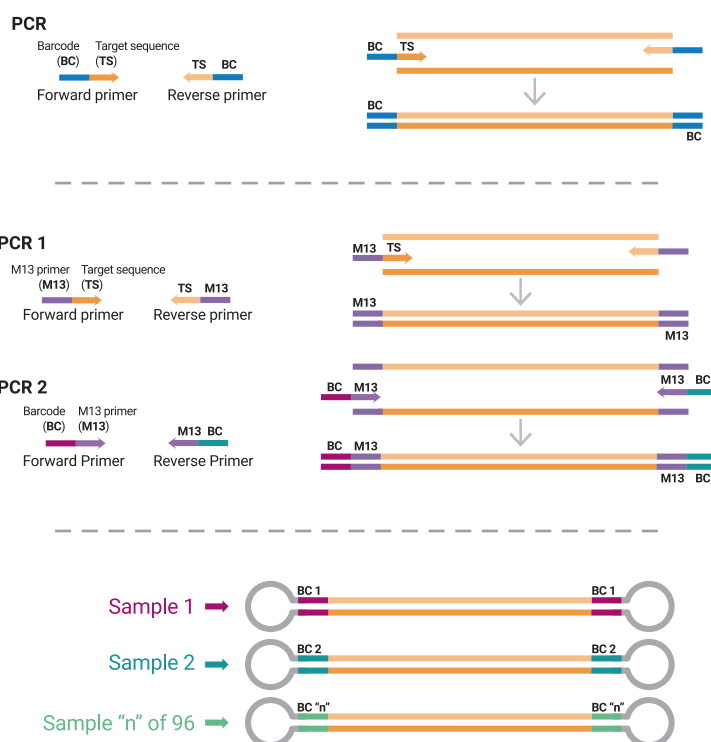
實例分享

- ▶ 使用 HiFi Reads 進行 *de novo* Assembly 已是黃金標準，使用兼具高準確度與長片段的策略，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。
- ▶ 目前使用 HiFi *de novo* Assembly 的物種如下表，並持續增加中！

				
	Human 人類 (CHM13hTERT 細胞株)	California Redwood 加州紅杉	Rose 玫瑰	Maize 玉米
基因體大小	3.05 Gb (2N)	27 Gb (6N)	400 – 750 Mb (2N – 5N)	2.5 Gb
HiFi Coverage	30X	22X	89X	20X
Contig N50	154.26 Mb	1.92 Mb	11 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 M13-tagged Barcoded Primers 或 PacBio Barcoded Adaptor；目的讓 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 HiFi 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 for single-step PCR

2. PacBio M13-tagged Barcoded Primers via two-step PCR

3. PacBio Barcoded Adaptor via ligation


建議規格

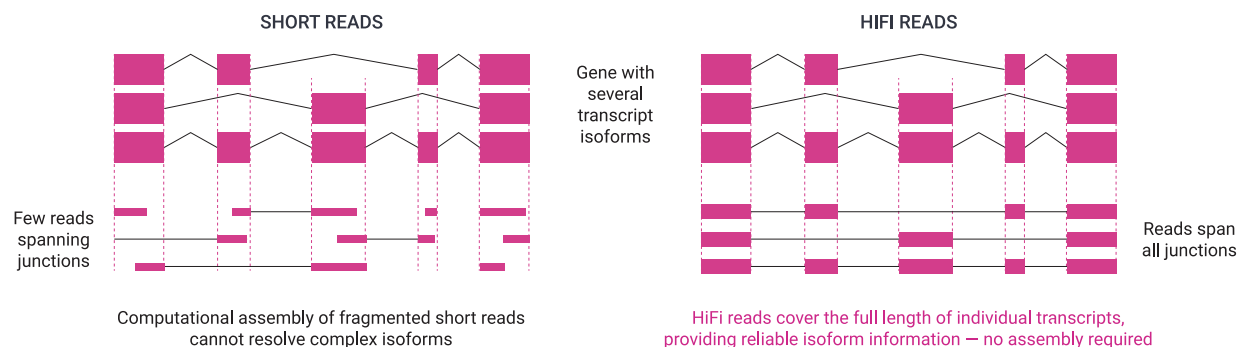
Experimental Goals		Coverage (fold, X)	建庫規格
Full length consensus sequences		30X HiFi coverage	依照 Amplicon Size 進行不同規格建庫 (100 bp - 10 kb library)
Minor variant detection	variants at 10% frequency	600X HiFi coverage	
	variants at 5% frequency	1,200X HiFi coverage	
	variants at 1% frequency	6,000X HiFi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

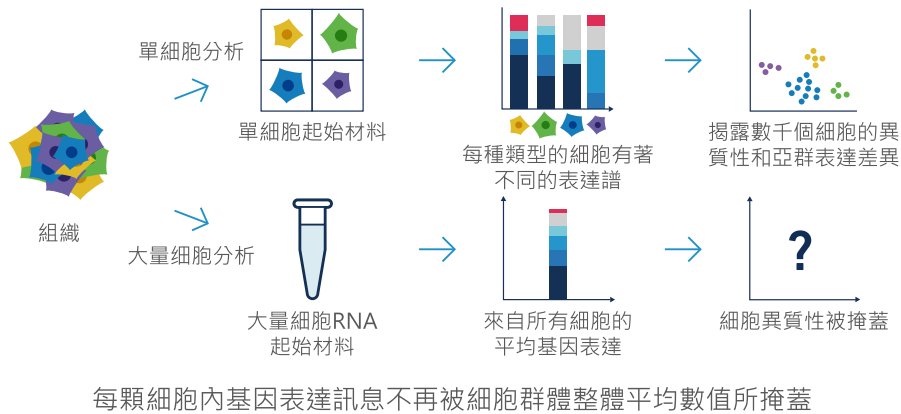
研究目的與實驗策略

實驗策略	研究目的	實驗細節與定序建議
Genome annotation	High-quality genome annotation	 詳細資訊
Whole transcriptome	Sample-specific reference transcriptome for isoform expression analysis with or without related short read data	
Targeted Iso-Seq	Quantitative characterization of isoforms of select genes	
Single-cell transcriptome	Identify cell type-specific isoforms	



	Source	Platform	Protocol	Species	Cultivar / 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
	AGI (unpubl.)	Illumina	RNA-Seq	<i>O. s. japonica</i>	Nipponbare / root	125,762	874
NGS short reads	AGI	PacBio	Iso-Seq	<i>O. s. indica</i>	MH63 / leaf	73,288	2416
PacBio long reads	AGI	PacBio	Iso-Seq	<i>O. s. indica</i>	ZS97 / leaf	22,856	2033

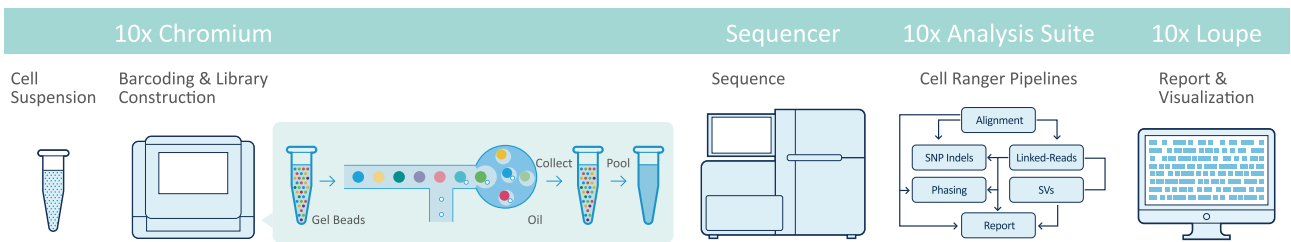
PacBio Iso-Seq 有更加精準且完整的 Isoforms 資訊。



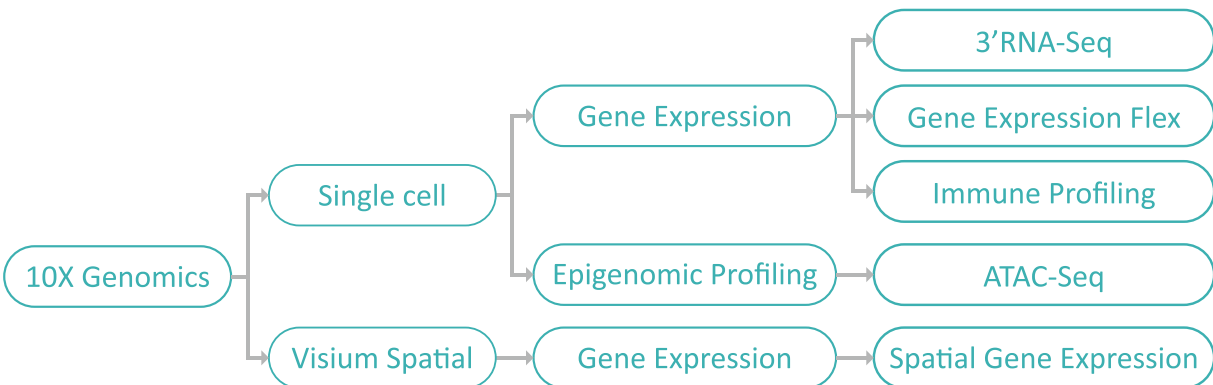
Chromium 是液流控制系統，進行自動化的液體流動和油滴包覆，目的為將 Gel Bead 與單顆細胞包覆於油滴中。Gel Beads 是 10x 技術核心，每個 Gel Bead 都帶有獨特的核苷酸分子條碼，可用於每一顆細胞標定。

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

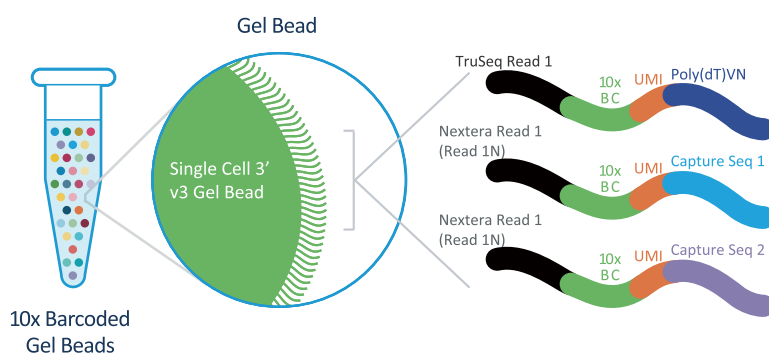


產品分類



【Single Cell RNA-Seq】

- ▶ 一次可捕獲 500 - 10,000 顆細胞，偵測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。
- ▶ 搭配 Feature barcode，可在單顆細胞上同時檢測 RNA 和膜蛋白表現，增加細胞分群解析度。
- ▶ 定序深度建議： $\geq 20,000$ reads/cell。
- ▶ 樣本種類：新鮮細胞懸浮液、PBMC。



Single cell 3' v3.1 Gel Beads 具有 feature barcode，經反轉錄作用合成帶有專一 barcode 的 cDNA fragment。

【Cellplex】

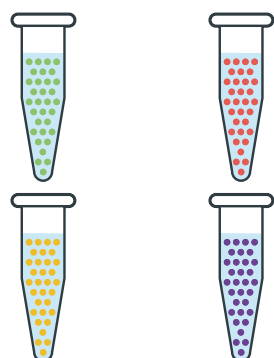
限用在 Single Cell 3' RNA-Seq 服務

- ▶ 最多可進行 12-plex 混樣，大幅降低單一標本實驗成本。
- ▶ 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。

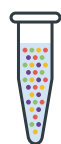
服務內容

- + 細胞標定
- + 單細胞建庫與定序
- + 標準分析與解題

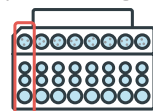
Label individual samples with unique tags



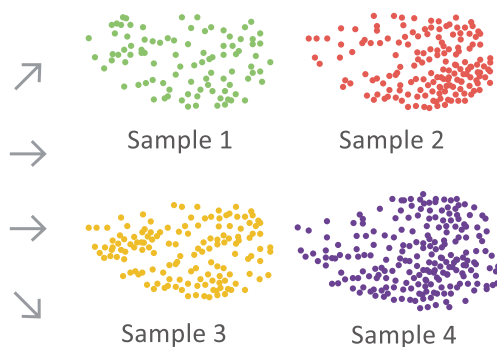
Pool samples into single reaction



Process pooled samples in single lane

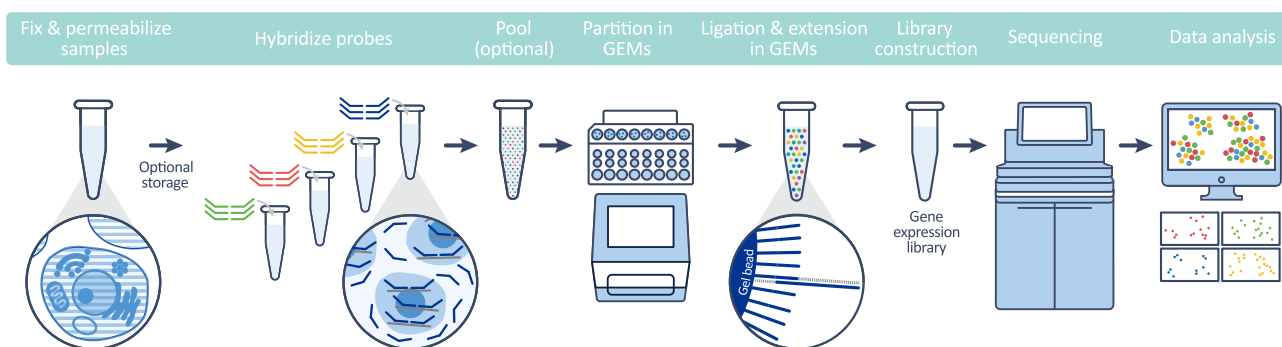


data with Cell Ranger



【Single Cell Gene Expression Flex】

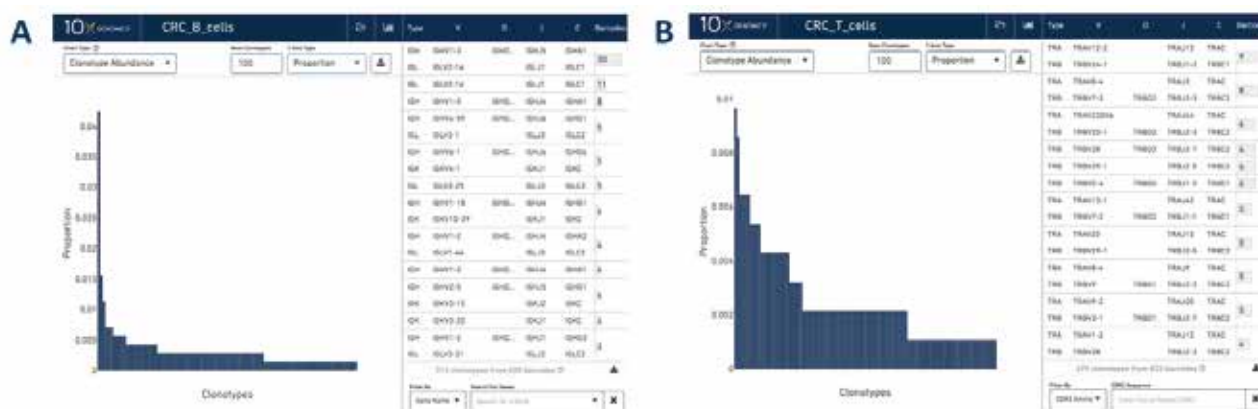
限用於 Chromium X



- ▶ 樣本於採集後先進行固定，不僅可保留細胞原始狀態，還能保護較脆弱的樣本。
- ▶ 固定後的樣本可儲存，待所有樣本製備完成後再一起上機，降低批次效應。
- ▶ 採用探針雜交方式，可進行多個樣本混樣，最高可進行百萬顆單細胞轉錄組實驗。
- ▶ 實驗規劃更具彈性，不受時間約束，簡化工作流程。
- ▶ 適用於人類與小鼠樣本。

【Single Cell Immune Profiling】

- ▶ 提供人類與老鼠的 TCR / BCR 高通量檢測方案。
- ▶ 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。
- ▶ 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。



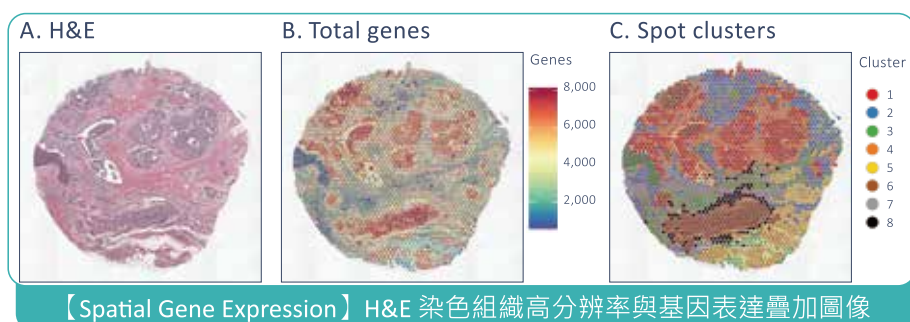
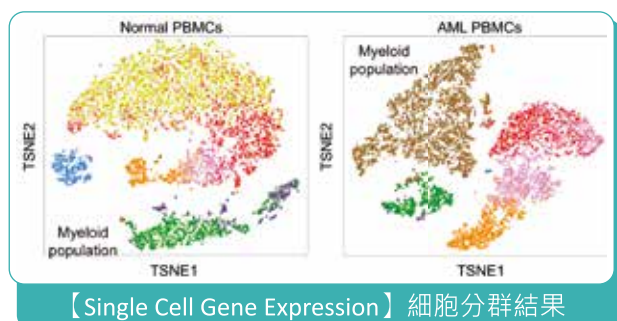
10x Loupe V(D)J Browser：圖形化呈現 Clonotype 比例與多樣性

【生資分析】

基米生資團隊提供您 10X Genomics 全系列產品分析服務。

標準分析

採用原廠分析軟體 Cell Ranger 或 Space Ranger 進行分析，並提供 Loupe Browser 操作介紹，讓您輕易上手。

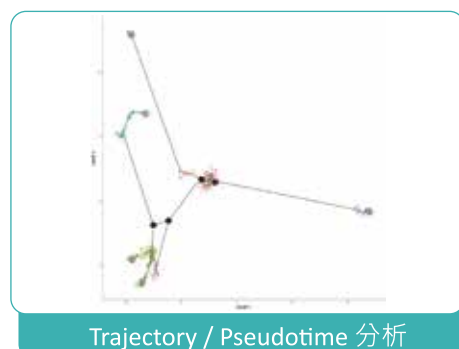
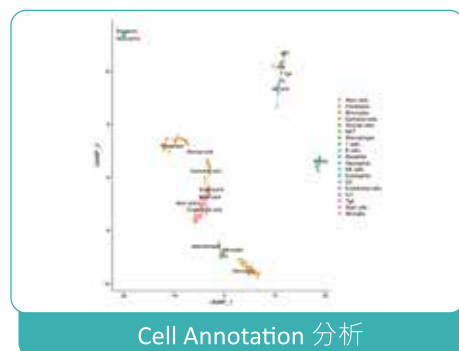


進階分析

限 Single Cell Gene Expression 分析

採用 Seurat 分析套件，分析內容如下：

- ▶ Quality Control
- ▶ Clustering
- ▶ Cell Annotation (僅適用於人類與小鼠)：
透過細胞相關的 marker genes，自動進行細胞類型標記。透過熱圖視覺化呈現註釋結果的 score matrix。
- ▶ Volcano Plot
- ▶ Trajectory / Pseudotime：
藉由細胞軌跡推斷了解細胞分化的動態過程。



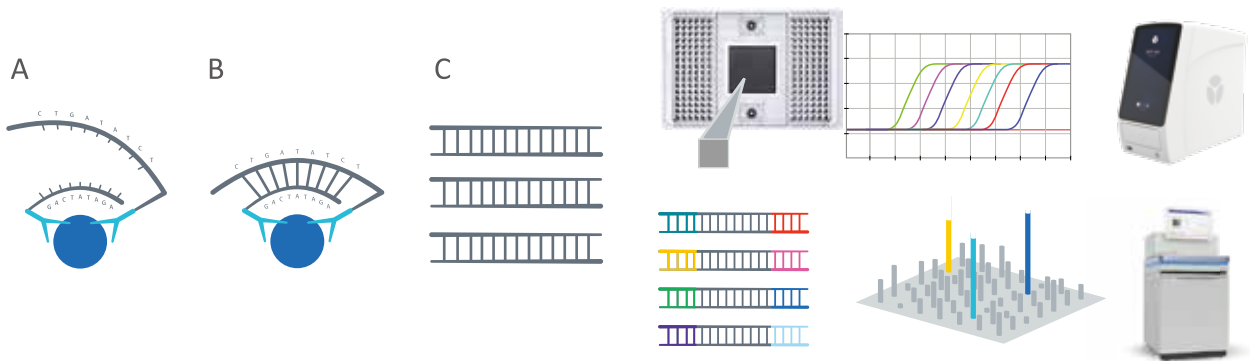


Olink™

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 μ l 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



- A. 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
- B. 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
- C. 再透過 qPCR 或 NGS 技術平臺進行核苷酸序列檢測



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。
- ▶ **檢測範圍廣：**約 10 logs (fg – mg)，同時檢測低/高表現蛋白。
- ▶ **樣本需求量少：**僅需 1-8 μ l 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。



服務流程



應用範圍

健康管理

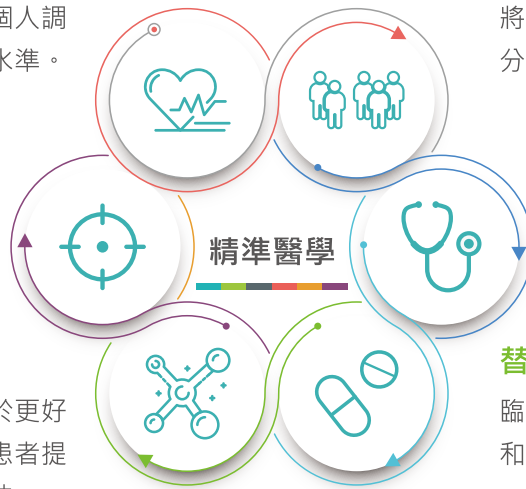
生物標記物可以監測和指導個人調整生活方式，進而提高健康水準。

確定新的藥物靶點 (pQTLs)

將全基因體關聯分析研究 (GWAS) 與蛋白質體學相結合，明確地識別新的藥物靶點。

更好地理解生物學

蛋白質生物標記物研究有助於更好地理解病理生理學，最終為患者提供更有效、更安全的治療方法。



病人分組

將患者按不同表型進行分組，或區分出對某種治療可能有效的患者。

疾病預測和治療評估

開發能夠診斷疾病、評估預後或監控持續治療有效性和安全性的相關生物標記物。

替代標記物

臨床試驗中，開發藥物安全性和有效性的替代標記物

產品清單

套組清單	物種	偵測平臺	送樣標準**
Olink™ Explore 3072 (3072-plex)	人	NGS	送樣量：150 µl 血漿/血清 -80 °C 保存、乾冰運送
Olink™ Explore 384 (384-plex) <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 5px;"> Cardiometabolic I/II Neurology I/II </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 5px;"> Inflammation I/II Oncology I/II </div>	人	NGS	送樣量：100 µl 血漿/血清 -80 °C 保存、乾冰運送
Olink™ Target 96 (96-plex) <div style="display: flex; flex-wrap: wrap; margin-top: 5px;"> <div style="margin-right: 5px;">Cardiometabolic</div> <div style="margin-right: 5px;">Inflammation</div> <div style="margin-right: 5px;">Cell Regulation</div> <div style="margin-right: 5px;">Metabolism</div> <div style="margin-right: 5px;">Cardiovascular II</div> <div style="margin-right: 5px;">Neurology</div> <div style="margin-right: 5px;">Cardiovascular III</div> <div style="margin-right: 5px;">Neuro Exploratory</div> <div style="margin-right: 5px;">Development</div> <div style="margin-right: 5px;">Oncology II</div> <div style="margin-right: 5px;">Immune Response</div> <div style="margin-right: 5px;">Oncology III</div> <div style="margin-right: 5px;">Immuno-Oncology</div> <div style="margin-right: 5px;">Organ Damage</div> <div style="margin-right: 5px; width: 100%;">Mouse Exploratory</div> </div>	人 小鼠	qPCR	送樣量：100 µl 血漿/血清 -80 °C 保存、乾冰運送
Olink™ Target 48* (48-plex) <div style="margin-top: 5px; border: 1px solid black; border-radius: 10px; padding: 2px 10px; display: inline-block;">Cytokine</div>	人	qPCR	送樣量：100 µl 血漿/血清 -80 °C 保存、乾冰運送
Olink™ Flex* (15 to 21-plex) 可由 ~200 個蛋白清單中挑選出 15-21 個製成一套組	人	qPCR	送樣量：100 µl 血漿/血清 -80 °C 保存、乾冰運送

* 具絕對定量功能。

** 其它樣本類型請諮詢。

Olink NPX 數據格式說明

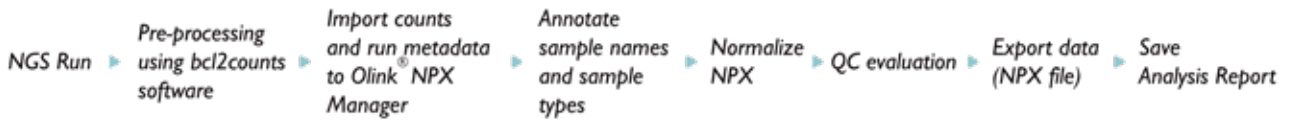
NPX 是「Normalized Protein eXpression」的縮寫，也是 Olink 獨有的數據專有名詞，以 \log_2 為單位。它是根據 Ct 值或是 counts 執行數據標準化 (normalization) 流程後的格式。NPX 可以表示樣品內不同蛋白的表現量程度，然後利用這些數據進行特徵分析。高 NPX 值則代表高蛋白質濃度。因 NPX 採 \log_2 為單位計算，因此 1 NPX 差異則代表 2 倍的濃度差異。



NPX 定義

數據處理流程

NGS 平台

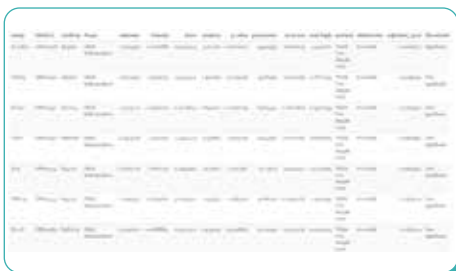


qPCR 平台

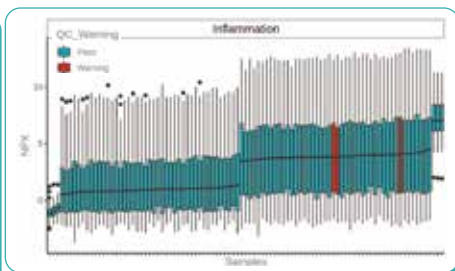


標準分析內容

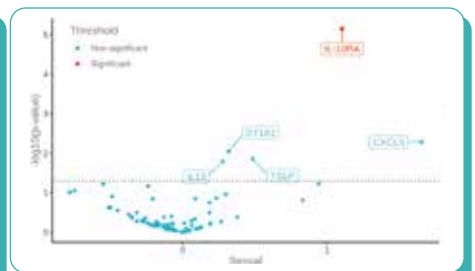
- NPX 數據品管
- 樣品散佈圖
- 蛋白質表現量分析
- 蛋白質差異表現量分析 (T-Test / ANOVA)
- 蛋白質生物功能富集分析 (ORA / GSEA)



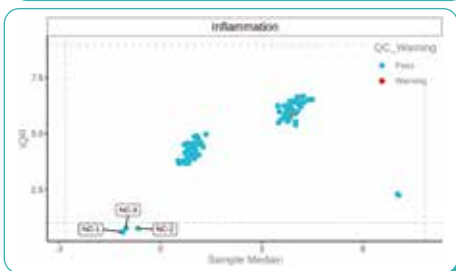
差異蛋白數據列表



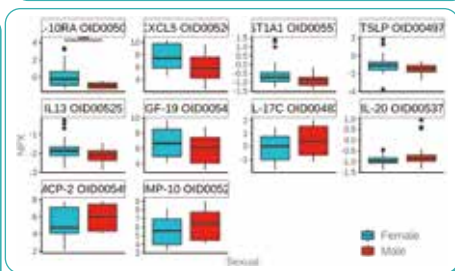
NPX QC – boxplot



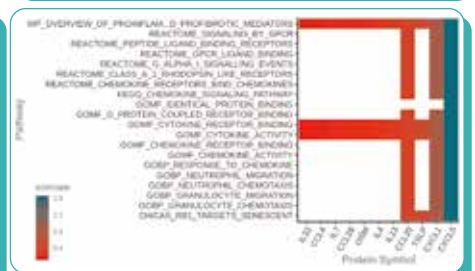
差異蛋白火山圖



NPX QC - scatter plot



差異蛋白箱型圖



生物功能富集分析熱圖

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
核酸 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](#)」；使用 Olink 服務請詳讀「[基龍米克斯 Olink 樣品訊息單與分組資訊單_GBST-olink-SI-01](#)」，此三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](#)」或「[基龍米克斯 Olink 樣品訊息單與分組資訊單_GBST-olink-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
Serum, Plasma	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](#)」，根據不同核酸類型與預計執行之實驗項目，進行適當的核酸檢測實驗。

- ▶ 根據 NGS 實驗室之核酸檢測結果，由專業人員判定核酸品質，並給予核酸檢測報告，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核酸檢測報告為主。

確認啟動 服務項目

- ▶ 根據 NGS 實驗室核酸檢測報告，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。
- ▶ 使用 Olink 服務不需執行樣品檢測，請和負責業務接洽進入服務委託程序，經「簽署客戶同意書」後即正式啟動。

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」；使用 Olink 服務請詳讀「基龍米克斯Olink樣品訊息單與分組資訊單_GBST-olink-SI-01」，此三份文件請向當區業務索取。

分析報告 結題說明

- ▶ 生資分析報告將預設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！

Let's Go NGS

NGS catalog v6 (Mar 2023)



GENOMICS

BIOSCI. & TECH. CO., LTD.
基龍米克斯生物科技股份有限公司

台北

📍 221 新北市汐止區新台五路一段 100 號 14 樓

☎ 886-2-2696-1658

📠 886-2-2696-1589

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

台南

📍 704 台南市北區海安路三段 781 巷 211 弄 1 號

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



官方網站



F B 粉絲團



I G 粉絲



LINE@ 好友