



## 06 | 二代测序文库构建

### 二代测序 (NGS)

2001 年，人类基因组计划（Human Genome Project, HGP）由包含中国在内的六个国家共同参与，历经十年，耗资数十亿美元完成。现在随着第二代基因测序技术（NGS）的快速发展，测序成本也大大降低，使得基因组测序的临床应用成为可能。NGS 在临床上目前主要应用于普通人的疾病筛查（如无创产前 DNA 检测）和癌症等致命性疾病的伴随诊断（如：肺癌的 KRAS 突变和 EGFR 突变）。

2017 年开始，TIANGEN 全面推出二代测序产品线，结合自身核酸纯化的技术优势为 NGS 客户提供从样本制备到文库构建的完整解决方案。TIANGEN 该系列产品包括适用于 Illumina、MGI 和 Ion Torrent 测序平台的 NGS 文库构建所需的全套产品，可广泛应用于医学检测、科学研究各个领域。

TIANGEN 注重产品品质，精益求精，不断丰富产品种类和服务形式，全新的二代测序文库构建产品线包括试剂盒、模块及原材料等多种形式，让不同需求的客户有更加灵活的选择。

## 产品选择指南-DNA建库篇

当我们使用二代测序技术对样本进行测序时，主要经过样本核酸提取、文库构建、上机测序、数据分析和结果验证几个步骤。其中，DNA文库构建是二代测序技术的基础，DNA文库构建的本质就是将待测定样本的大片段基因组DNA片段化为小片段的DNA，之后在小片段DNA分子两端添加测序接头，形成能上机测序有效的文库分子的过程。具体的二代测序小片段DNA文库构建流程包括DNA片段化、末端修复、A尾添加、接头连接和PCR富集五步。

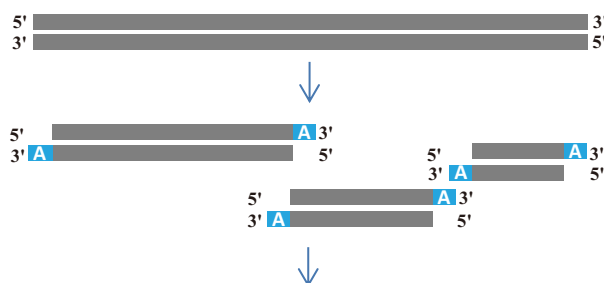
### 快速一站式建库方案（illumina平台适用）

DNA片段化	末端修复	A尾添加	接头连接	PCR富集
(所需总时间: 2.5小时)				
· TIANSeq Fragmentation/End repair/dA-tailing Module (NG301-01/02)			· TIANSeq Fast Ligation Module(NG303-01/02)	· TIANSeq NGS Library Amplification Module (NG304-01/02) · TIANSeq Library Amplification Kit (NG231)

#### Step1

##### DNA片段化/末端修复/添加A尾

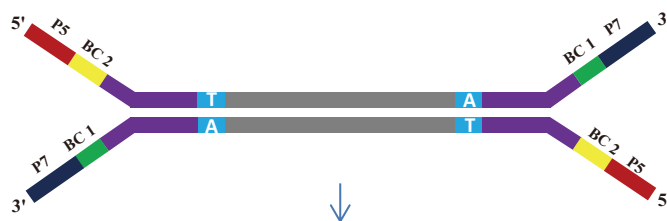
- TIANSeq Fragmentation/End repair/dA-tailing Module (NG301)可将gDNA和大片段DNA的片段化、末端修复、A尾添加反应一步完成。
- 本模块对DNA的片段化是随机进行的，不具有序列偏好性。



#### Step2

##### 接头连接

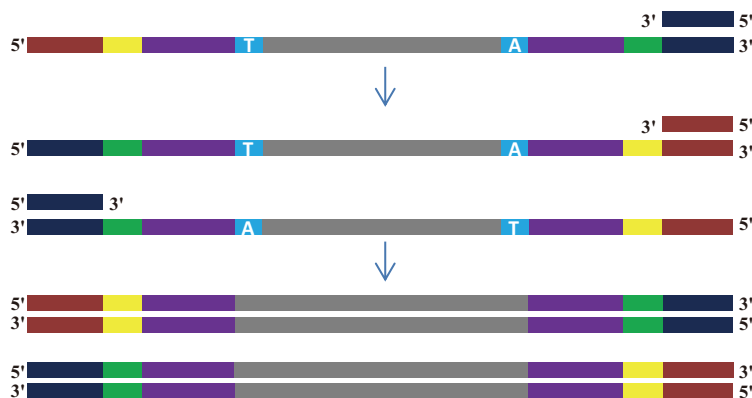
- TIANSeq Fast Ligation Module(NG303) 可将3'端带有dA尾的DNA片段与adapter进行连接。
- 本模块采用了一步法反应流程，片段化后的DNA，无需磁珠纯化，可使用本模块直接与adapter进行连接。








#### Step3

##### PCR富集

- TIANSeq NGS Library Amplification Module (NG304) 包含P5/P7引物，适用于两侧含有P5/P7序列的文库DNA片段的扩增。
- TIANSeq Library Amplification Kit (NG231)是针对二代测序 (NGS) 文库富集反应开发的高效、高保真PCR反应试剂。



DNA建库产品选择指南

文库制备流程	试剂盒			模块&原料酶		配套仪器		
片段化	TIANSeq 通用型 DNA文 库构建 试剂盒 (illumina & MGI) NG111	TIANSeq 直接快速 DNA文 库构建 试剂盒 (illumina) NG101	TIANSeq快速 DNA文库 构建试剂盒 (illumina) NG102	TIANSeq 快速DNA 片段化末 端修复dA 添加模块 NG301	TIANSeq DNA片段化模块 NG305		 手动移液器   PCR仪   磁力架   荧光计   qPCR仪	
末端修复				TIANSeq末端 修复/dA添加 模块 NG302	T4 DNA聚合酶NG205 / Klenow 酶 NG203 / T4多聚核苷酸激酶NG206			
加dA尾					Klenow酶（无3'-5'外切活性） NG202 / Klenow酶（无3'-5'外切活 性）（低浓度） NG215			
接头连接				TIANSeq快速连接模块NG303		T4 DNA连接酶NG201		
纯化/片段分选				TIANSeq 双索引接头(illumina)NG216 / TIANSeq 双索引接头(MGI)NG230				
PCR富集				TIANSeq DNA片段分选磁珠NG316				
纯化				TIANSeq文库富集试剂盒NG231/TIANSeq NGS文库富集模块NG304				
				TIANSeq DNA片段分选磁珠NG316				
文库质控	TIANSeq文库定量试剂盒（illumina）NG105/dsDNA高灵敏度检测试剂盒OSR-F101							

产品信息（试剂盒及模块）

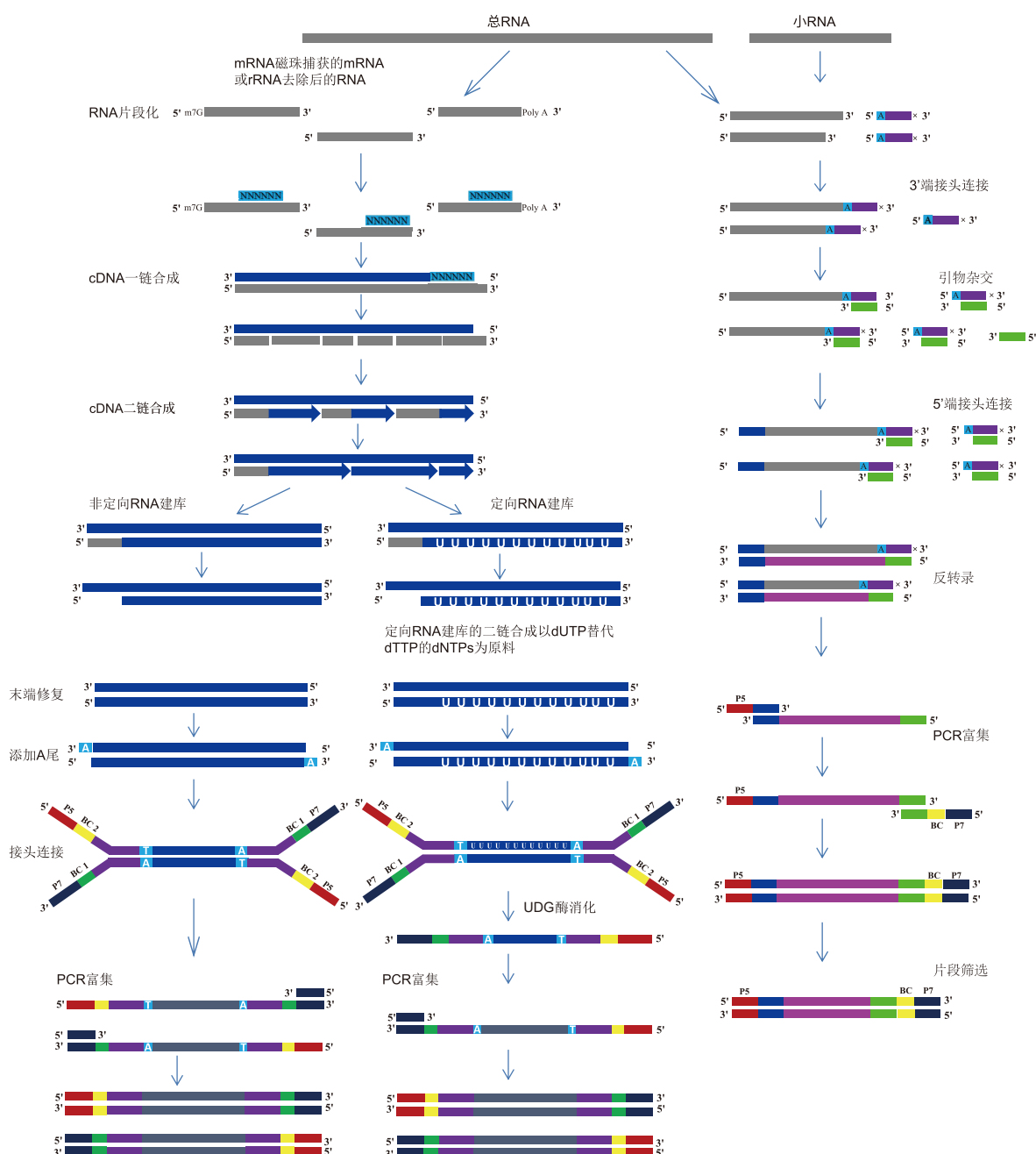
特点	产品名称	目录号	规格	目录价
片段化 快速	TIANSeq通用型DNA文库构建试剂盒 TIANSeq Universal DNA Library Kit	NG111-01	8 次	2480 元
		NG111-02	24 次	6180 元
		NG111-03	96 次	20600 元
快速	TIANSeq直接快速DNA文库构建试剂盒 TIANSeq DirectFast Library Kit (illumina)	NG101-01	24 次	6432 元
		NG101-02	96 次	23600 元
	TIANSeq快速DNA文库构建试剂盒 TIANSeq Fast DNA Library Kit (illumina)	NG102-01	24 次	5680 元
		NG102-02	96 次	19800 元
广泛兼容	TIANSeq单链甲基化文库构建试剂盒（即将上市）			

流程	产品名称	目录号	规格	目录价
片段化末 修加A	TIANSeq快速DNA片段化/末端修复/dA添加模块	NG301-01	24 次	3580 元
	TIANSeq Fragment/Repair/Tailing Module	NG301-02	96 次	11560 元
末修 加A	TIANSeq末端修复/dA添加模块	NG302-01	24 次	2400 元
	TIANSeq End repair/dA-Tailing Module	NG302-02	96 次	7680 元
连接	TIANSeq快速连接模块	NG303-01	24 次	2500 元
	TIANSeq Fast Ligation module	NG303-02	96 次	8980 元
富集	TIANSeq NGS文库富集模块	NG304-01	24 次	1760 元
	TIANSeq NGS Library Amplification Module	NG304-02	96 次	6480 元
片段化	TIANSeq DNA片段化模块	NG305-01	24 次	720 元
	TIANSeq DNA Fragmentation Module	NG305-02	96 次	2400 元
文库定量 染料法	TIANSeq文库定量试剂盒(illumina)	NG105-01	20 $\mu$ l $\times$ 500 次	7080 元
	TIANSeq DNA Quantification Kit (illumina)			
核酸 纯化	TIANSeq DNA片段分选磁珠	NG316-01	15 ml	2080 元
	TIANSeq Size Selection DNA Beads	NG316-02	60 ml	6480 元







## 产品选择指南-RNA建库篇

二代测序RNA文库的构建，根据RNA的种类主要分为mRNA文库、lncRNA文库、small RNA文库等。mRNA和lncRNA文库构建流程包括RNA富集、RNA片段化、cDNA第一链及第二链的合成、末端修复、A尾添加及PCR富集。RNA富集是mRNA及lncRNA文库构建前的必要步骤，这是因为rRNA在总RNA中占比超过80%，如不进行rRNA去除操作，mRNA及lncRNA文库的测序数据中绝大部分为rRNA的相关数据，不利于全面深入的分析mRNA及lncRNA的表达差异及序列变化。Small RNA文库与mRNA及lncRNA文库的构建流程是不一样的，主要包括3' 接头连接及封闭、5' 接头连接、cDNA合成、PCR富集。基于illumina平台的RNA操作流程如下图所示：



## RNA文库制备产品选择指南

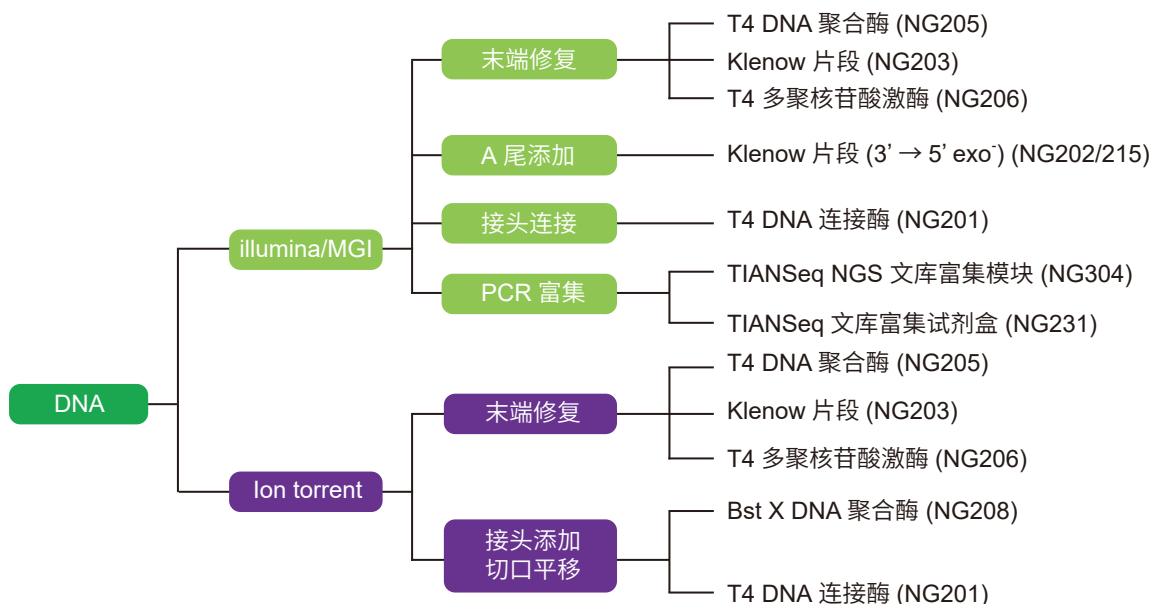
文库制备流程		试剂		配套仪器	
RNA富集	TIANSeq mRNA 捕获磁珠 NR205 动物RNA富集 NR201-T1 G <sup>+</sup> 细菌RNA富集 NR201-T5 G <sup>-</sup> 细菌RNA富集 NR201-T6 植物RNA富集 NR201-T7			 手动移液器	
片段化	TIANSeq 通用型 RNA文库构建试剂盒 (illumina & MGI) NR122	TIANSeq 通用型 链特异 RNA文库构建试剂盒 (illumina & MGI) NR123	TIANSeq M-MLV(RNase H-)反转录酶 NG212 RNAse抑制剂 NG209		 PCR仪
第一链cDNA合成			DNA聚合酶I NG204 RNA酶H NG207	 磁力架	
第二链cDNA合成			TIANSeq末端修复/ dA添加模块 NG302		T4 DNA聚合酶 NG205 Klenow 酶 NG203 T4 多聚核苷酸激酶 NG206
末端修复				Klenow 酶 (无3'-5' 外切活性) NG202 Klenow 酶 (无3'-5' 外切活性) (低浓度) NG215	 qPCR仪
A尾添加			TIANSeq快速连接模块 NG303	T4 DNA连接酶 NG201	
接头连接			TIANSeq 双索引接头 (illumina) NG216 / TIANSeq 双索引接头 (MGI) NG230		
纯化/片段分选			TIANSeq DNA 片段分选磁珠 NG316		
PCR富集			TIANSeq文库富集试剂盒 NG231 TIANSeq NGS文库富集模块 NG304		
文库纯化			TIANSeq DNA 片段分选磁珠 NG316		
文库质控	TIANSeq文库定量试剂盒 (illumina) NG105/dsDNA高灵敏度检测试剂盒 OSR-F101				

## 产品信息

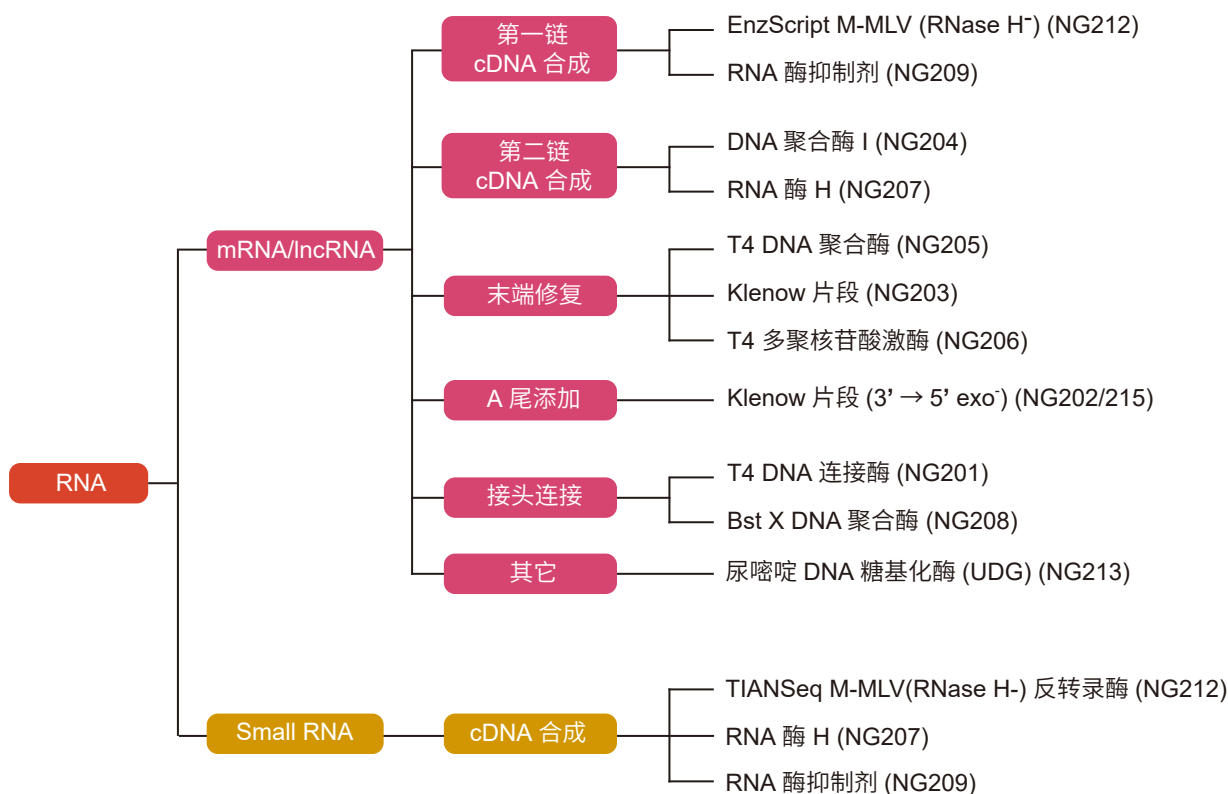
应用场景	产品名称	目录号	规格	目录价
PolyA <sup>+</sup> RNA 捕获	TIANSeq mRNA捕获磁珠	NR205-01	24 次	600 元
		NR205-02	96 次	2280 元
普通转录组 RNA文库制备试剂	TIANSeq快速RNA文库构建试剂盒(Illumina)	NR112-01	24 次	10680 元
		NR112-02	96 次	34800 元
	TIANSeq通用型 RNA文库构建试剂盒	NR122-01	8 次	3980 元
		NR122-02	24 次	10180 元
		NR122-03	96 次	31600 元
链特异RNA文库制备试剂 即将上市	TIANSeq通用型链特异RNA文库构建试剂盒	NR123-01	8 次	3980 元
		NR123-02	24 次	10180 元
		NR123-03	96 次	31600 元
Small RNA建库	TIANSeq 小RNA 文库构建试剂盒	NR104	24 次	16000 元

## 建库原材料产品选择指南

## DNA文库构建所需酶类产品选择指南



## RNA文库构建所需酶类产品选择指南



## NGS 文库制备产品

## DNA 文库制备试剂盒

目录号	产品名称	包装	价格
NG101-01	TIANSeq 直接快速 DNA 文库构建试剂盒 (Illumina)	24 次	6432 元
NG101-02		96 次	23600 元
NG102-01	TIANSeq 快速 DNA 文库构建试剂盒 (Illumina)	24 次	5680 元
NG102-02		96 次	19800 元
NG111-01	TIANSeq 通用型 DNA 文库构建试剂盒	8 次	2480 元
NG111-02		24 次	6180 元
NG111-03		96 次	20600 元

## RNA 文库制备试剂盒

目录号	产品名称	包装	价格
NR104	TIANSeq 小 RNA 文库构建试剂盒	24 次	16000 元
NR112-01	TIANSeq 快速 RNA 文库构建试剂盒 (illumina 平台)	24 次	10680 元
NR112-02		96 次	34800 元
NR122-01	TIANSeq 通用型 RNA 文库构建试剂盒	8 次	3980 元
NR122-02		24 次	10180 元
NR122-03		96 次	31600 元
NR123-01	TIANSeq 通用型链特异 RNA 文库构建试剂盒	8 次	3980 元
NR123-02		24 次	10180 元
NR205-01	TIANSeq mRNA 捕获试剂盒	24 次	600 元
NR205-02		96 次	2288 元

## NGS 文库制备模块

目录号	产品名称	包装	价格
NG301-01	TIANSeq 快速 DNA 片段化 / 末端修复 / dA 添加模块	24 次	3580 元
NG301-02		96 次	11560 元
NG302-01	TIANSeq 末端修复 / dA 添加模块	24 次	2400 元
NG302-02		96 次	7680 元
NG303-01	TIANSeq 快速连接模块	24 次	2500 元
NG303-02		96 次	8980 元
NG304-01	TIANSeq NGS 文库富集模块	24 次	1760 元
NG304-02		96 次	6480 元
NG305-01	TIANSeq DNA 片段化模块	24 次	720 元
NG305-02		96 次	2400 元
NG316-01	TIANSeq DNA 片段分选磁珠	15 ml	2080 元
NG316-02		60 ml	6480 元

## NGS 文库制备配套方案

目录号	产品名称	包装	价格
NG105-01	TIANSeq 文库定量试剂盒 (Illumina 平台)	20 $\mu$ l $\times$ 500 次	7080 元

New

New



## NGS 原料

目录号	产品名称	包装	价格
NG201-01	T4 DNA 连接酶 (快速)	24000 U	720 元
NG201-02		240000 U	4380 元
NG202-01	Klenow 酶 (无 3'-5' 外切活性)	1500 U	760 元
NG202-02		10000 U	3350 元
NG203-01	Klenow 酶	500 U	1000 元
NG203-02		2500 U	3080 元
NG204-01	DNA 聚合酶 I	500 U	500 元
NG204-02		5000 U	3080 元
NG205-01	T4 DNA 聚合酶	300 U	780 元
NG205-02		2000 U	3080 元
NG206-01	T4 多聚合核苷酸激酶	1500 U	2500 元
NG206-02		10000 U	8080 元
NG207-01	RNA 酶 H	500 U	500 元
NG207-02		5000 U	3080 元
NG208-01	Bst X DNA 聚合酶	8000 U	980 元
NG208-02		40000 U	4380 元
NG209-01	RNAse 抑制剂	4000 U	670 元
NG209-02		20000 U	3080 元
NG212-01	TIANSeq M-MLV(RNase H-) 反转录酶	10000 U	1080 元
NG213-01	尿嘧啶 DNA 糖基化酶 (UNG)	1000 U	508 元
NG213-02		10000 U	3080 元
NG216-A	TIANSeq 双索引接头 (Illumina)	96 次	4980 元
NG216-B	TIANSeq 双索引接头 (Illumina)	96 次	4980 元
NG216-C	TIANSeq 双索引接头 (Illumina)	96 次	4980 元
NG216-D	TIANSeq 双索引接头 (Illumina)	96 次	4980 元
NG215-01	Klenow 片段 (3'-5' exo-) (低浓度)	2500 U	1180 元
NG215-02		10000 U	3150 元
NG231-01	TIANSeq 文库富集试剂盒	24 次	620 元
NG231-02		96 次	2000 元
NG224-01	FEA 增强剂 FEA Enhancer	120 $\mu$ l	50 元
NG224-02		480 $\mu$ l	100 元
NG223-01	10 $\times$ 文库稀释缓冲液	1 ml	80 元
NG221-01	P5/P7 引物预混液 (10 $\mu$ M each)	24 次	120 元
NG221-02		96 次	380 元
NG230-A	TIANSeq 双索引接头 (MGI)	20 $\mu$ l $\times$ 24	3680 元
NG230-B	TIANSeq 双索引接头 (MGI)	20 $\mu$ l $\times$ 24	3680 元
NG230-C	TIANSeq 双索引接头 (MGI)	20 $\mu$ l $\times$ 24	3680 元
NG230-D	TIANSeq 双索引接头 (MGI)	20 $\mu$ l $\times$ 24	3680 元