

分子酶创新与NGS/PCR应用

Innovation of Molecular Enzymes Application of NGS / PCR

- ◆ DNA文库制备试剂盒 (酶片段化)
- ◆ DNA文库制备试剂盒
- ◆ Equinox 高保真扩增预混液
- ◆ Equinox Uracil文库扩增试剂盒
- ◆ RNA文库制备试剂盒
- ◆ StellarScript系列逆转录酶
- ◆ 多重高保真PCR试剂盒
- ◆ T4 DNA Ligase

DNA文库制备试剂盒 (酶片段化)

应对复杂NGS文库制备的挑战:提效、降损、均一、保真

产品亮点:

- § 打断随机, 低位点偏好, 与超声打断随机性相当
- § 高保真 (嵌合、回文、Clipping等较少)
- § 高连接效率, 转化率高
- § 高灵敏度及高扩增效率
- § 适用GC/AT高挑战模板, 高覆盖均一性及UMI家族均一性, GC偏好低
- § 聚合、外切活性双重“热启动”

产品性能:

片段长度可调, 起始量范围宽泛, 片段分布高度一致

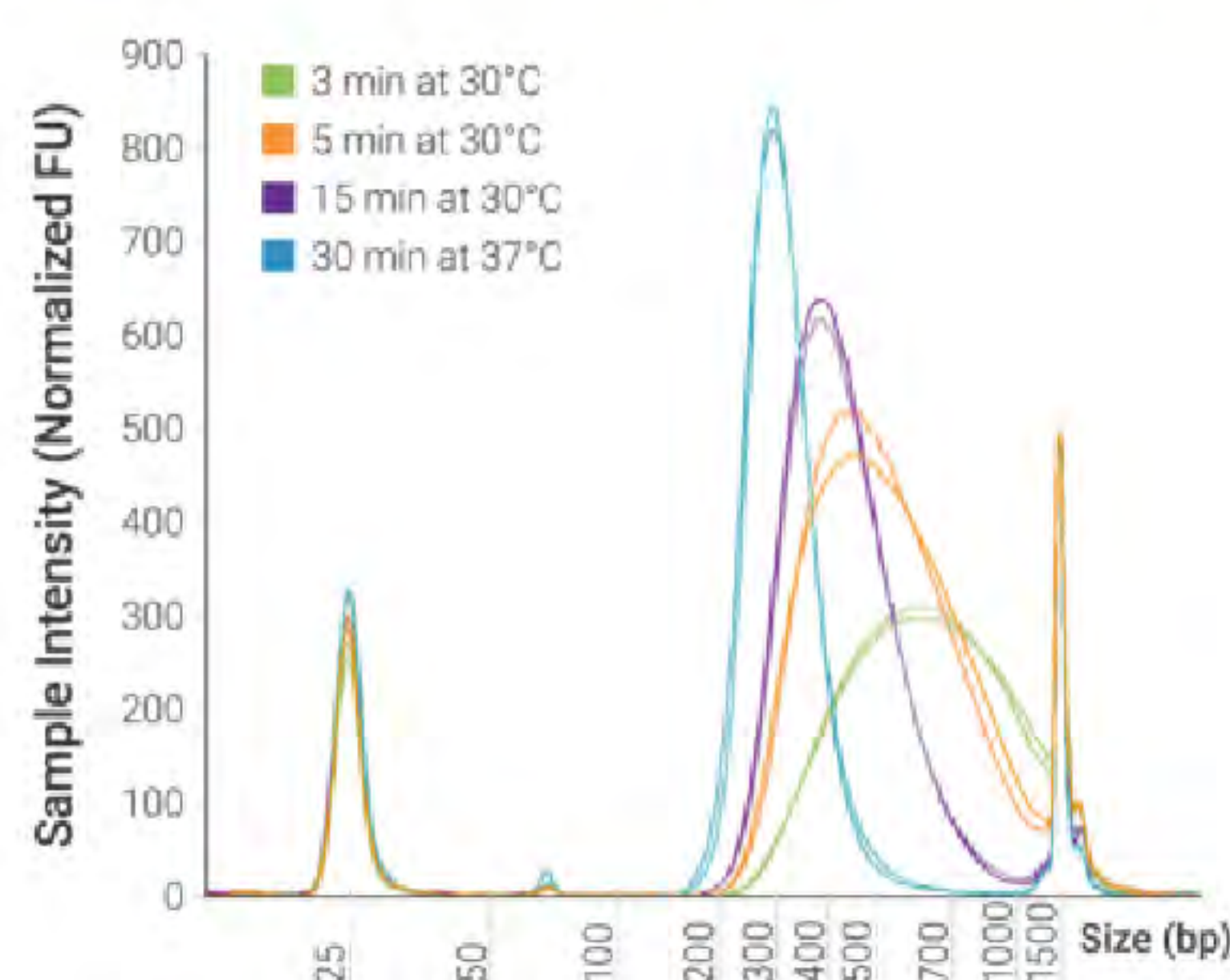


图1. 50ng人类gDNA起始量, 3 – 30分钟酶切条件

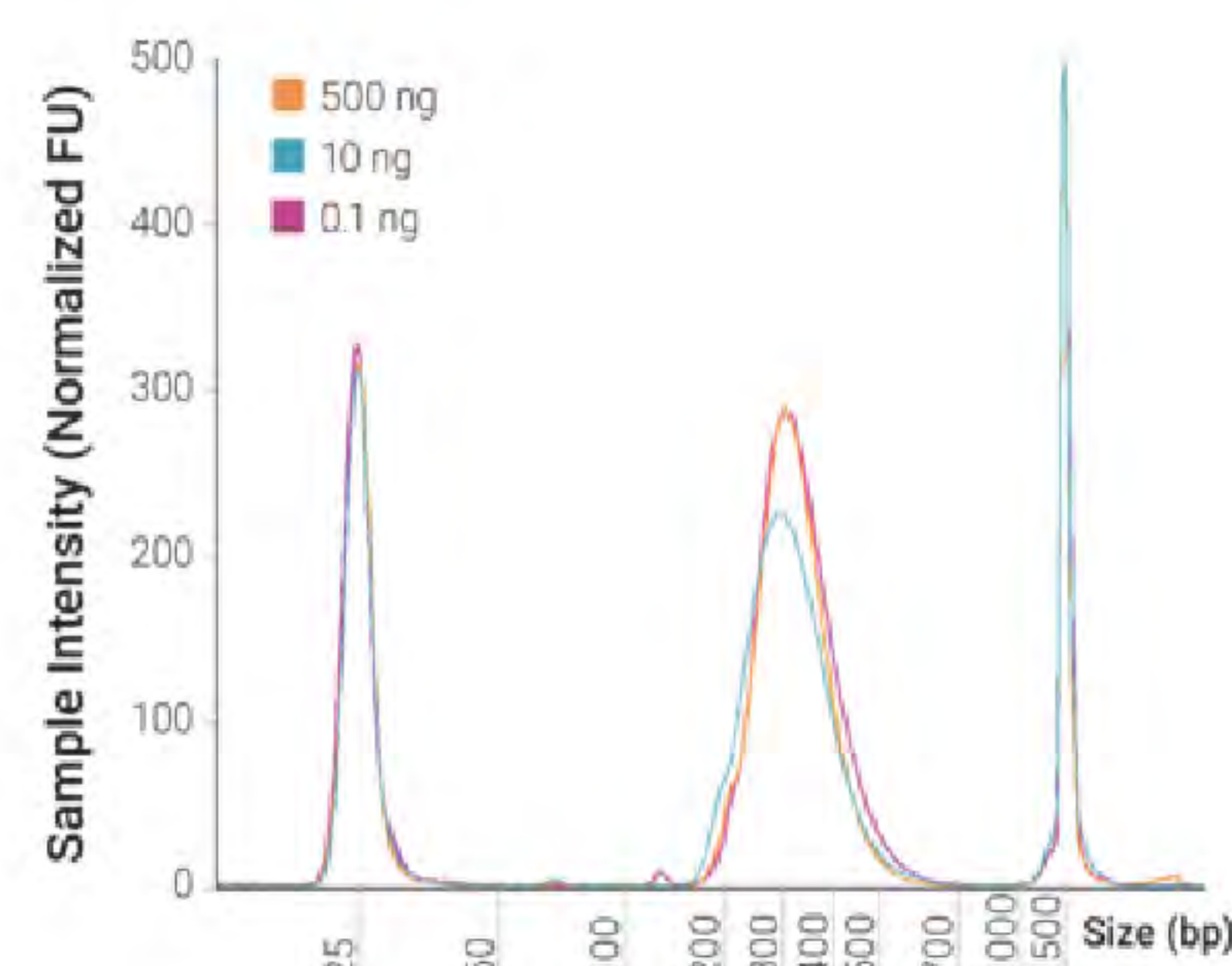
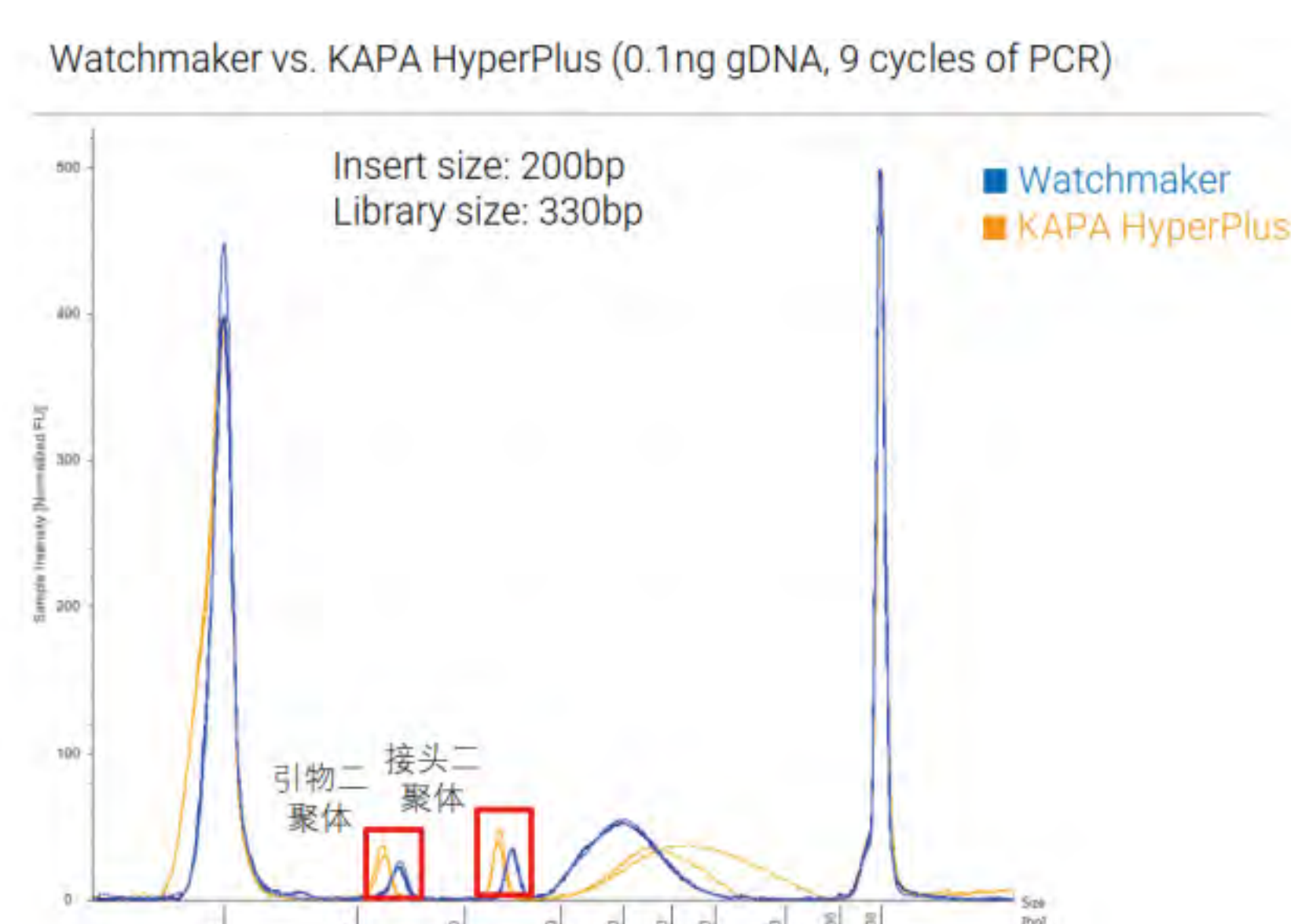
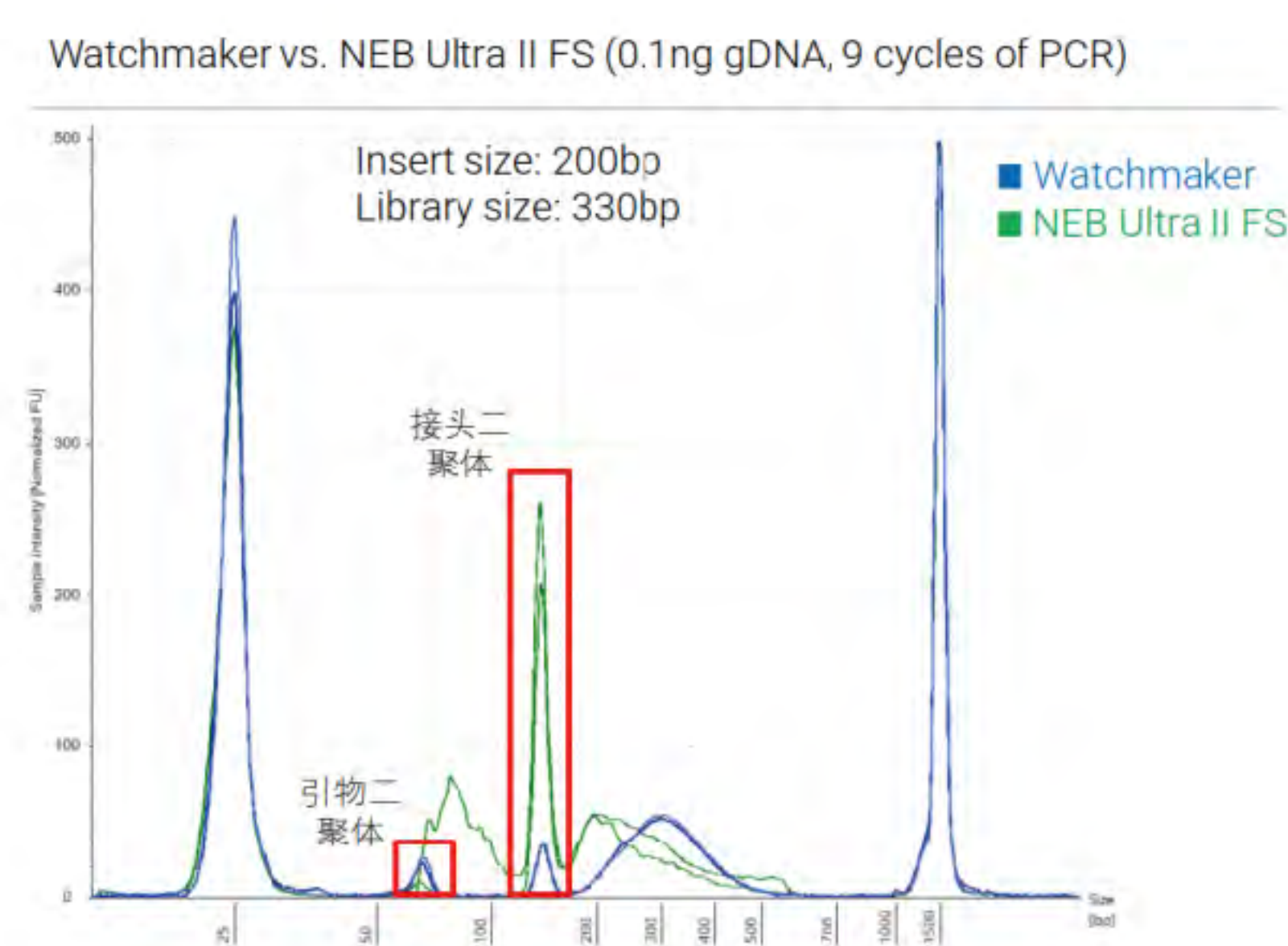


图2. 20分钟30°C酶切条件, 0.1ng – 500ng起始量

在各种酶切时间、温度或起始量条件下, 片段长度可调且片段分布显示出高度一致性及重现性。

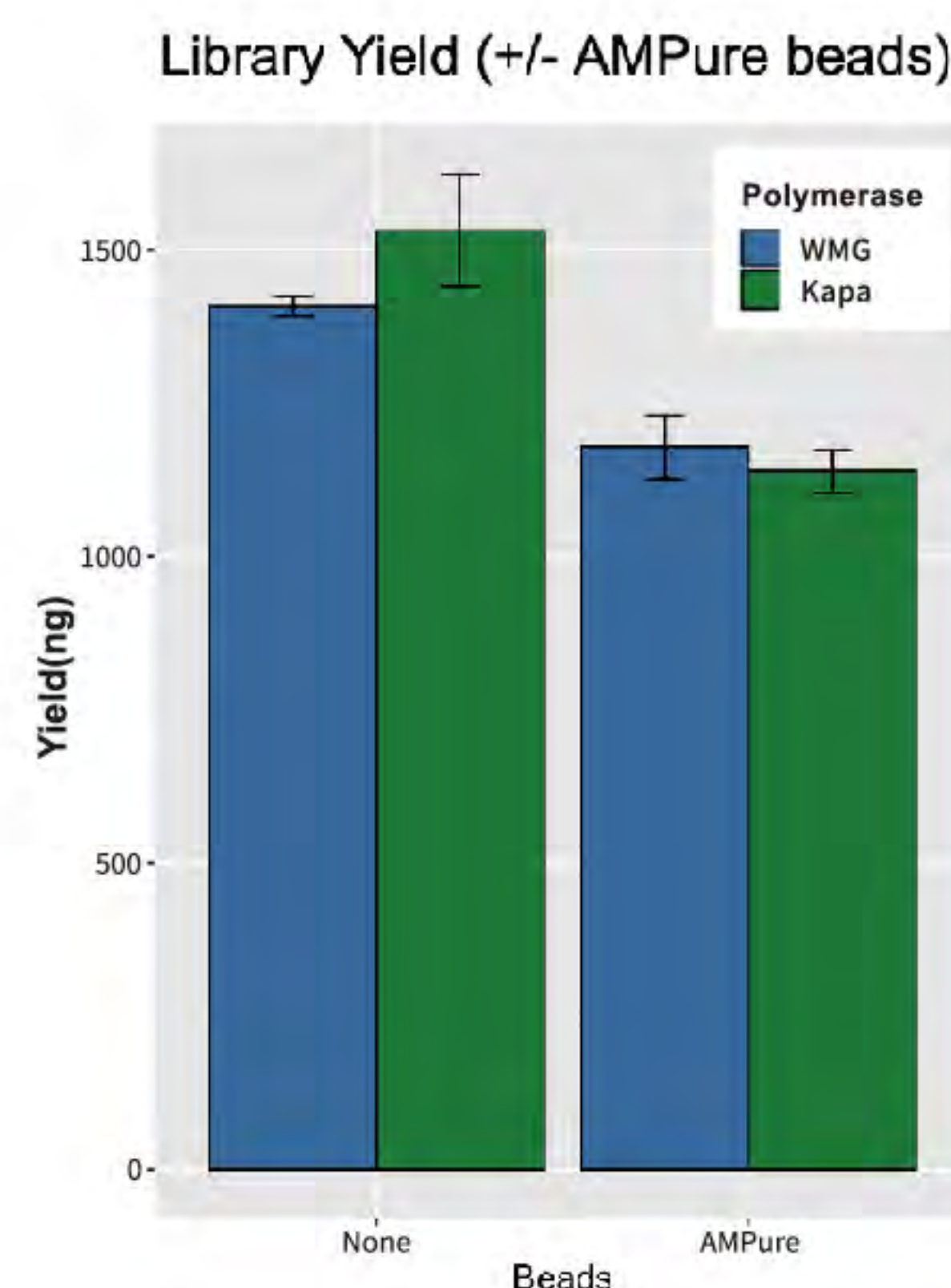
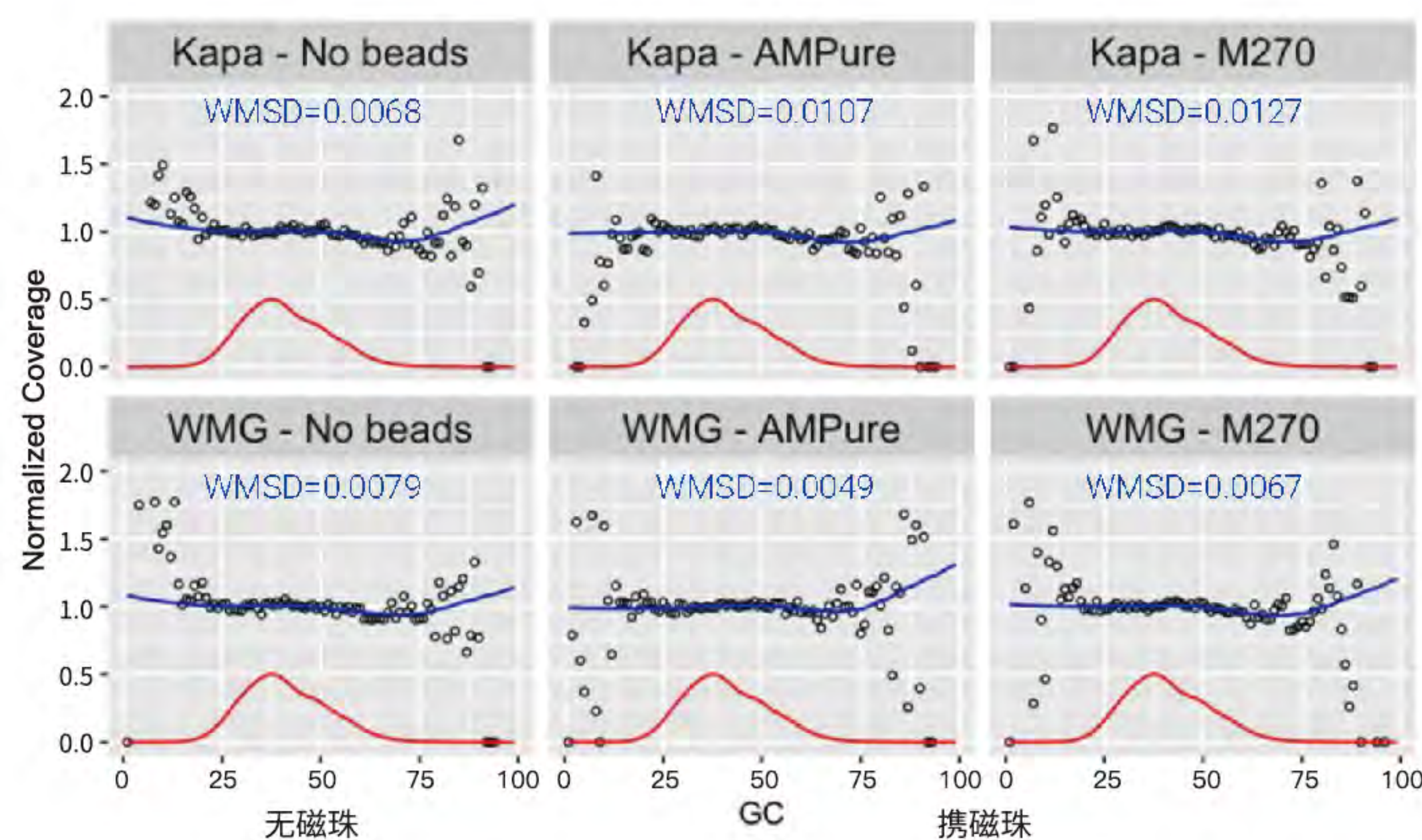
低起始量的连接效率



微量起始条件, Watchmaker酶片段化建库显示出高度一致性, 二聚体少, 转化率高, 片段长度准确, 分布正态, 优于NEB Ultra II FS和KAPA HyperPlus。

§ 携磁珠扩增能力

覆盖均一性 (WMSD = Weighted Mean Squared Deviation, 加权平均方差)



Beads	AT_DROPDOWN Rate Relative to KAPA HiFi
None	0.950 +/- 0.014
AMPure	0.878 +/- 0.037
M270	0.975 +/- 0.013

微生物基因组混合模板:
Plasmodium falciparum
(mean GC=19.4), Escherichia coli
(mean GC=50.5),
Pseudomonas aeruginosa
(mean GC=66.1)

40pg文库分子经26循环后测序:在无磁珠时, Equinox与KAPA HiFi的扩增能力和覆盖均一性表现相当;在携磁珠时, 扩增能力和覆盖均一性均显现出优势, 尤其是AT缺失率 (AT-Dropout) 更低, 体现出对高挑战模板的良好性能。

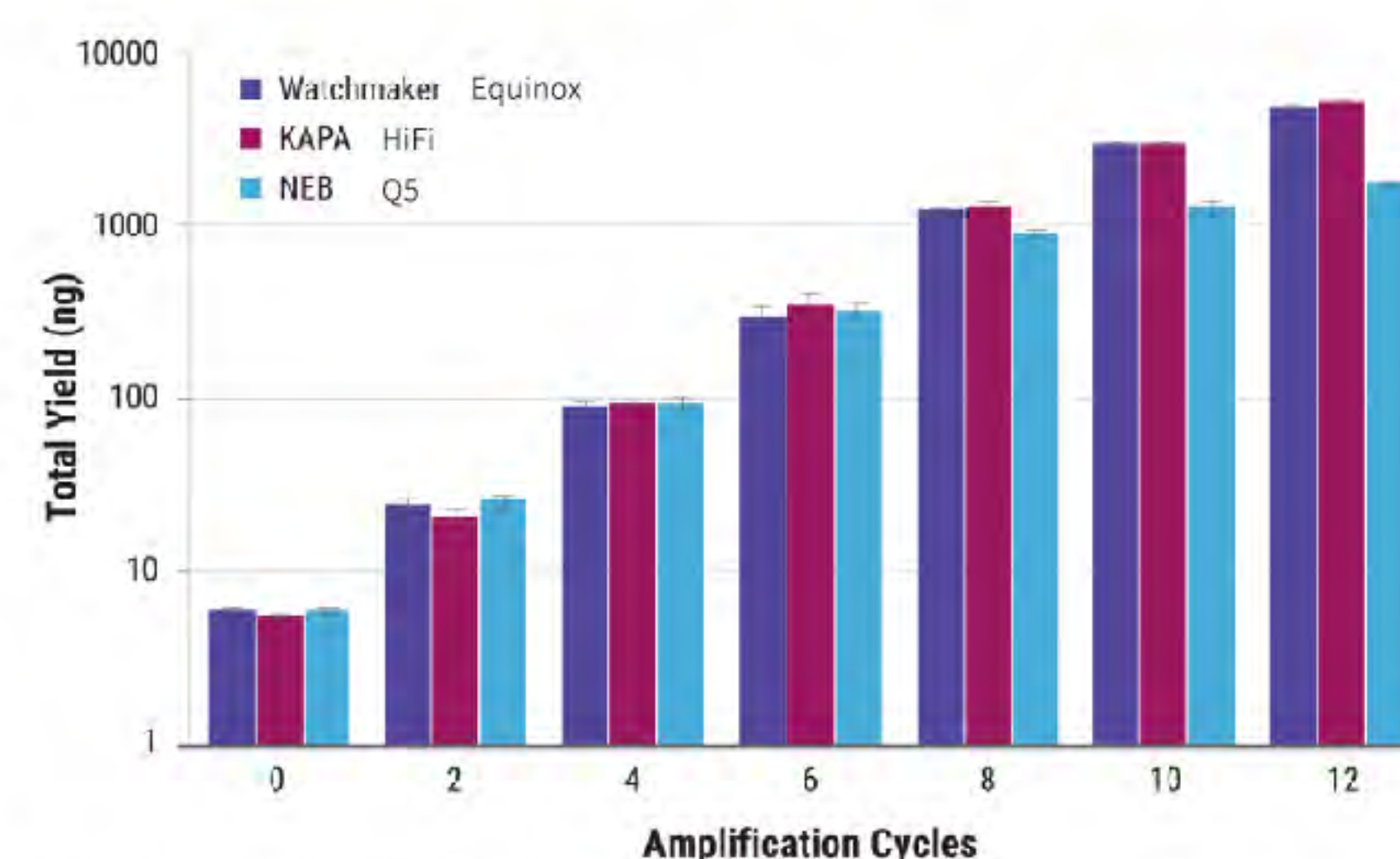
扩增效率: § 高灵敏度、特异性 § 高产量 § 长链持续合成能力

扩增效率与稳定性

Lot	Primer Set	Min to Max copies tested	3 Plasmid GC (%)	Efficiency (Avg_Dup)	R ²
Lot 1	P5/P7	3,000 - 30M (10 ⁴)	20.8	98.7	0.999
			45.6	98.4	0.999
			80.9	97.5	0.999
Lot 2			20.8	94.6	0.999
			45.6	100.3	0.997
			80.9	96.6	0.999
Lot 3			20.8	97.7	1.000
			45.6	97.9	0.999
			80.9	97.4	0.999

起始模板为3种GC含量 (20.8%-80.9%) 且插入片段长度处于225-400bp的质粒, 浓度范围为3K-30M拷贝数, 复孔检验。

扩增效率与产量

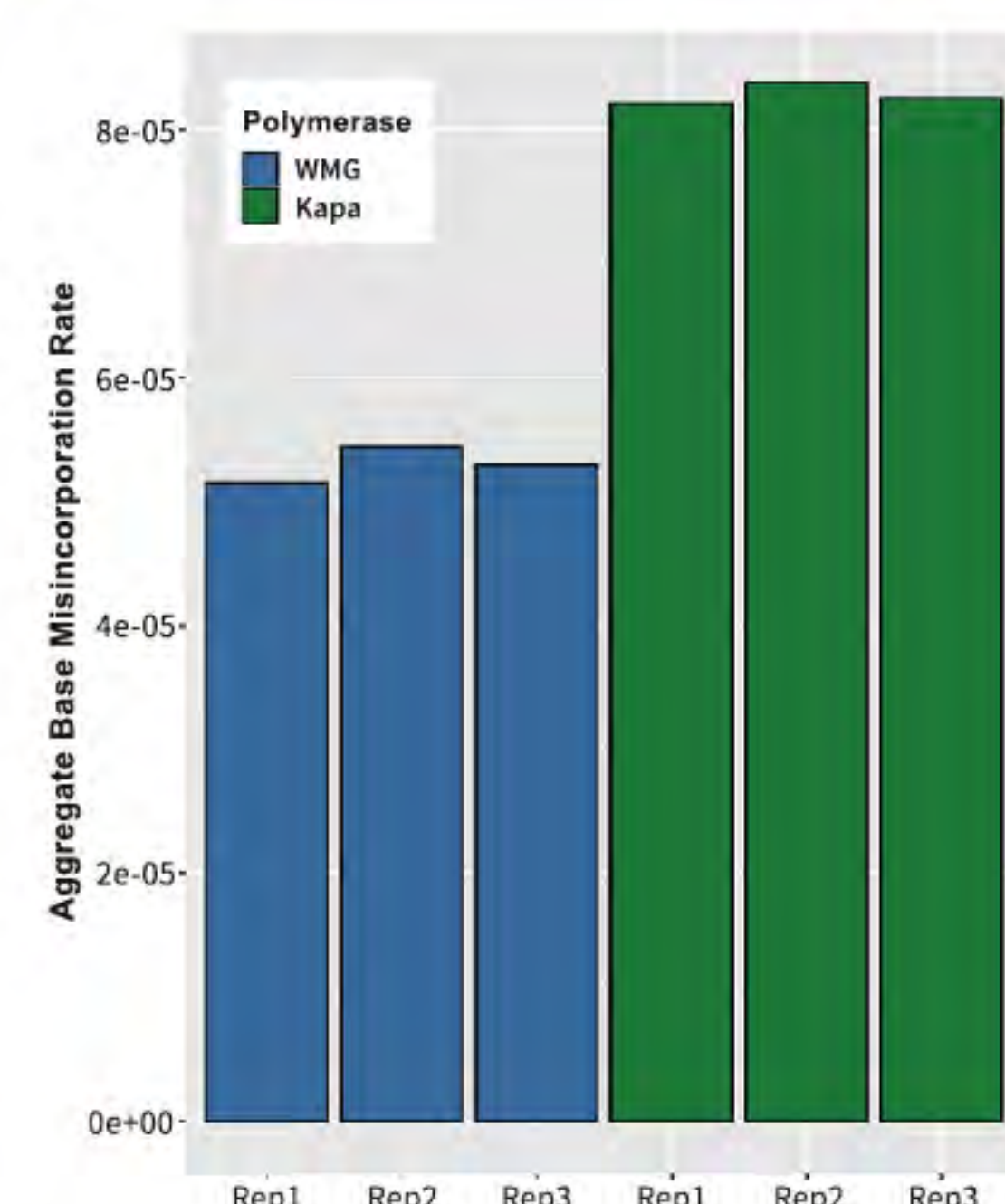


起始样品为10ng人类WGS测序文库, 定量方法为qPCR。

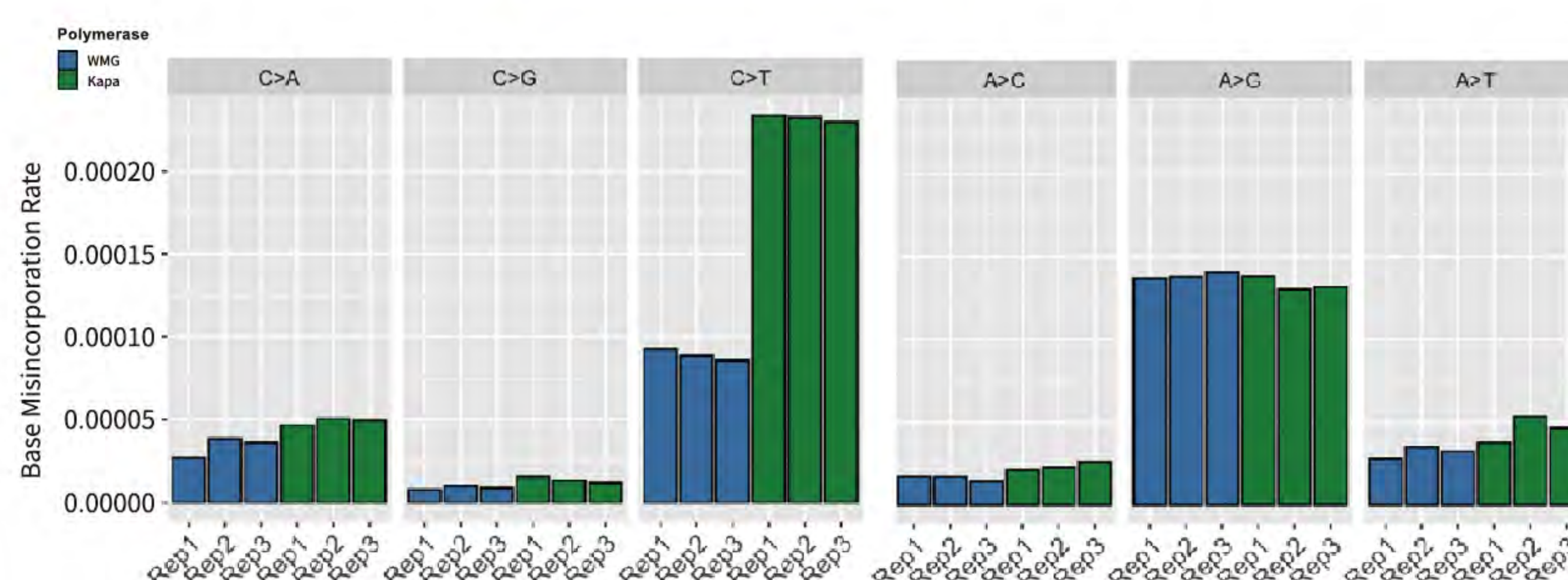
Equinox与KAPA HiFi的倍增系数相似, 扩增效率出色、稳定, 受GC含量的影响较小。 Equinox与KAPA HiFi的扩增效率相当, 高于NEB Q5

保真性: § 高保真, 低碱基错误率、嵌合体 § 聚合酶和外切酶活性的双重“热启动”

整体碱基错误率

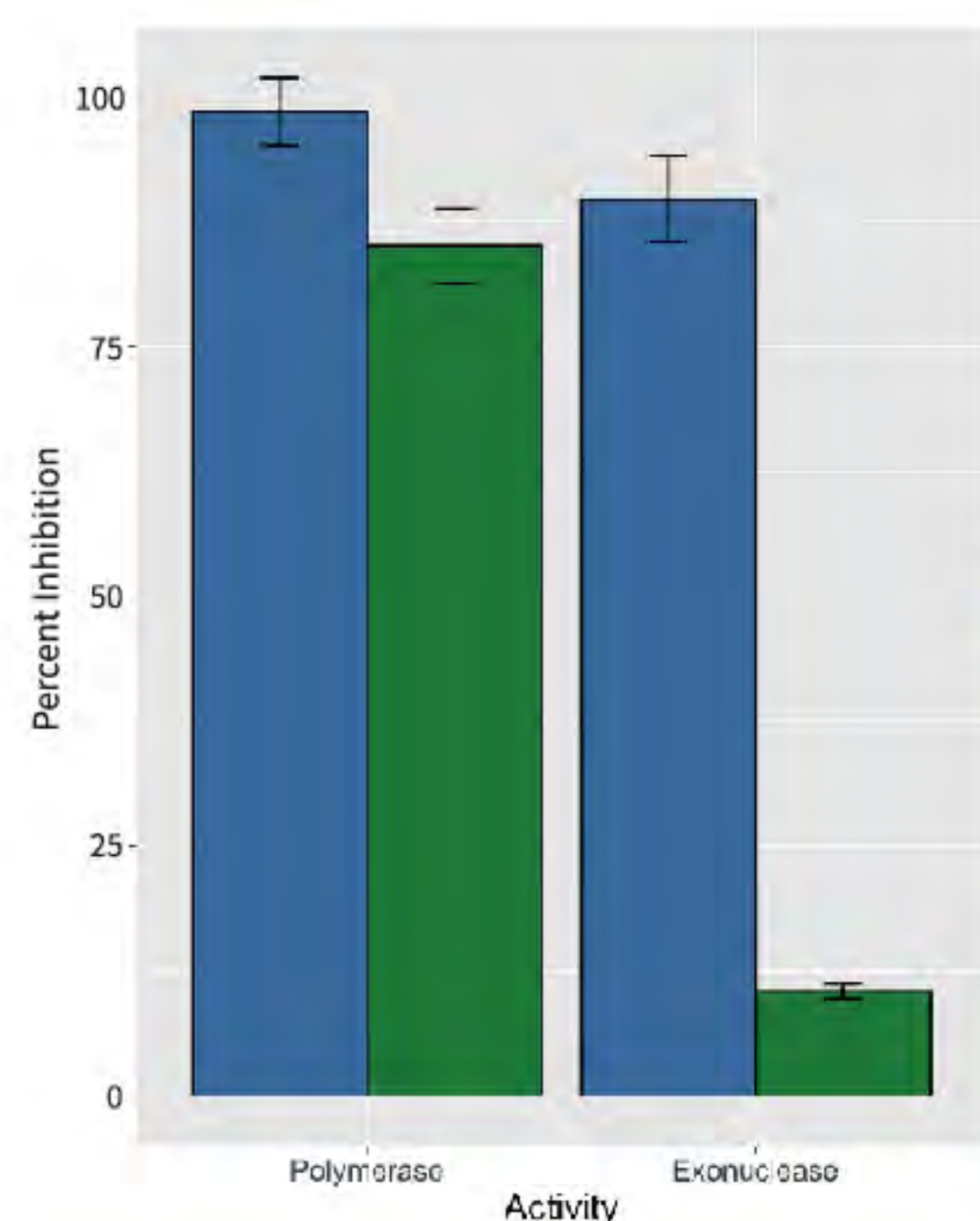


碱基错误分析



Equinox扩增的整体碱基错误率低于KAPA HiFi, 降低约40%, 其中C>T的保真性优势尤为显著。

扩增酶“启动抑制”的能力比较

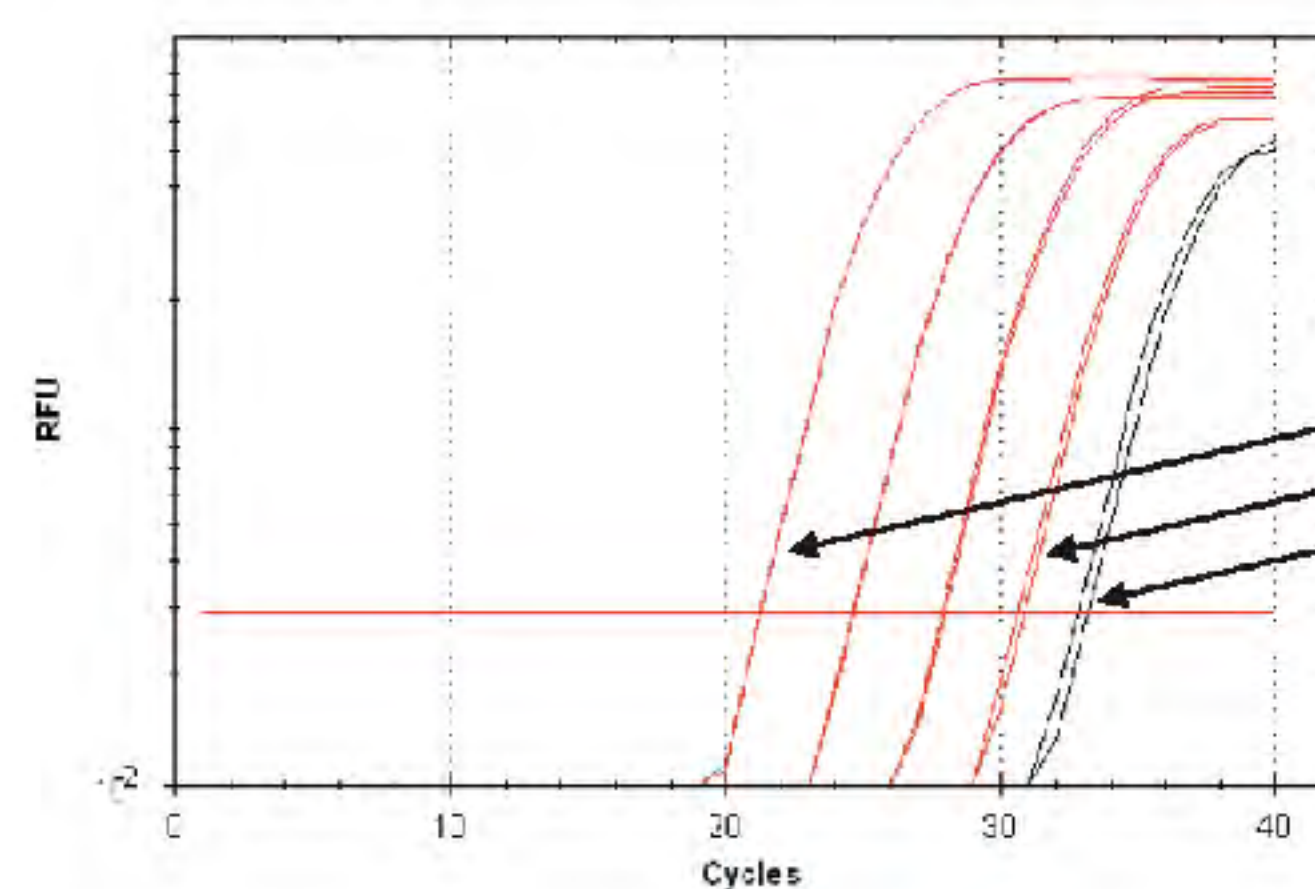


37°C下经16h持续监测dNTP的掺入和dNMP释放速率, 与非热启动反应比较。

Equinox相比KAPA HiFi在非工作温度下表现出聚合酶活性和外切酶活性的双重有效抑制, 大大减少了非特异性扩增。

接头污染率

Lot	Primer Set	Min to Max copies tested	Copies of Contamination	STD
Lot 1	P5/P7	10 - 10K (10 ³)	2.2	0.2
Lot 2			3.4	0.6
Lot 3			2.1	0.4



起始模板为一段连有接头的合成序列, 浓度范围为10-10K拷贝数, 复孔检验。

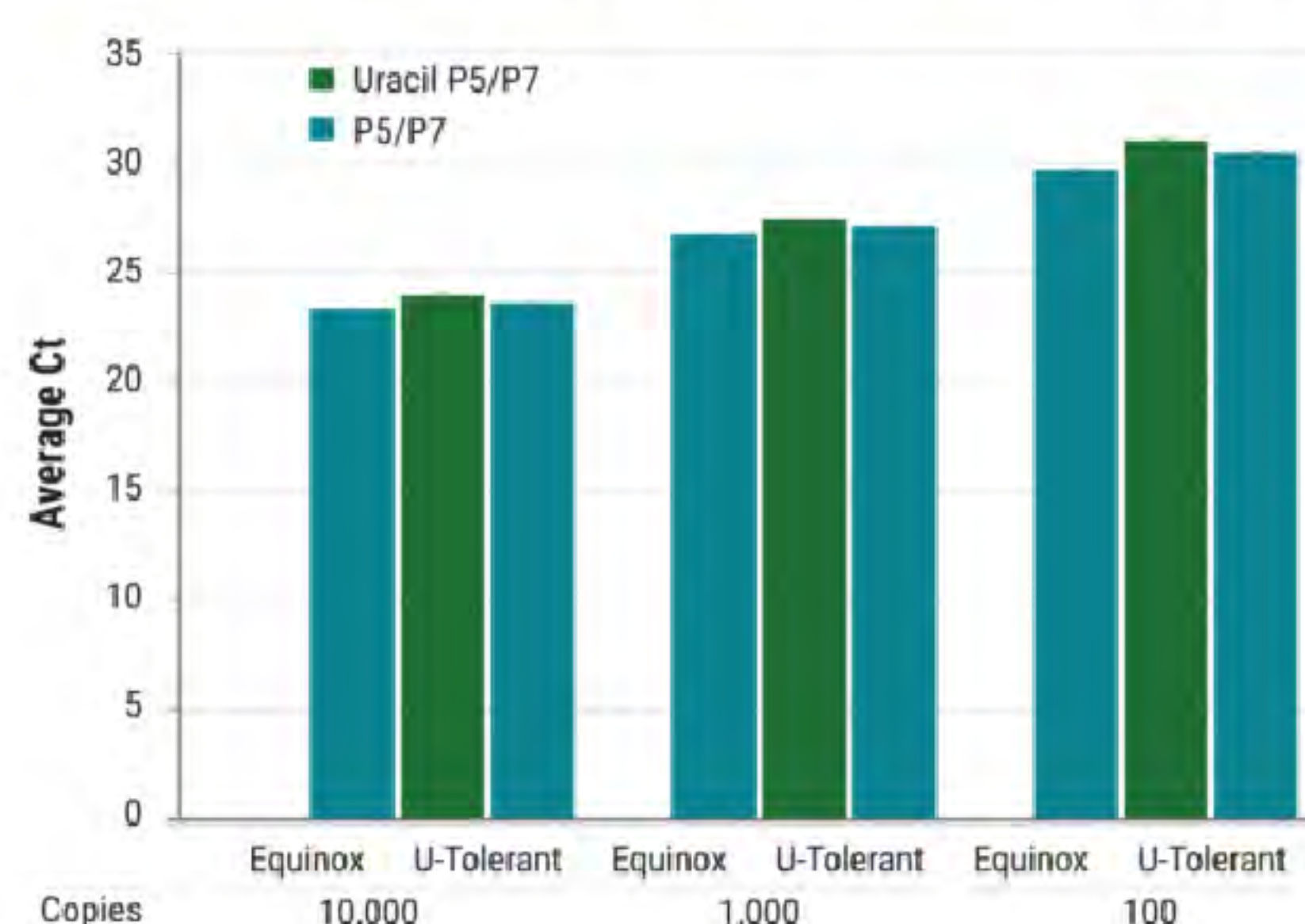
接头污染率极低, 体现出较强的合成能力和较小的小片段偏好扩增的风险。

Equinox Uracil文库扩增试剂盒

产品亮点:

- § Uracil耐受力高, 有效扩增Uracil富集模板起始量范围宽
- § UMI家族均一化扩增
确保稳健的数据质控和低频变异检测
- § 扩增效率和保真度与 Equinox Library Amplification Kit 相当
- § 适用各种甲基化测序的文库扩增

产品性能: 含Uracil引物的扩增效率



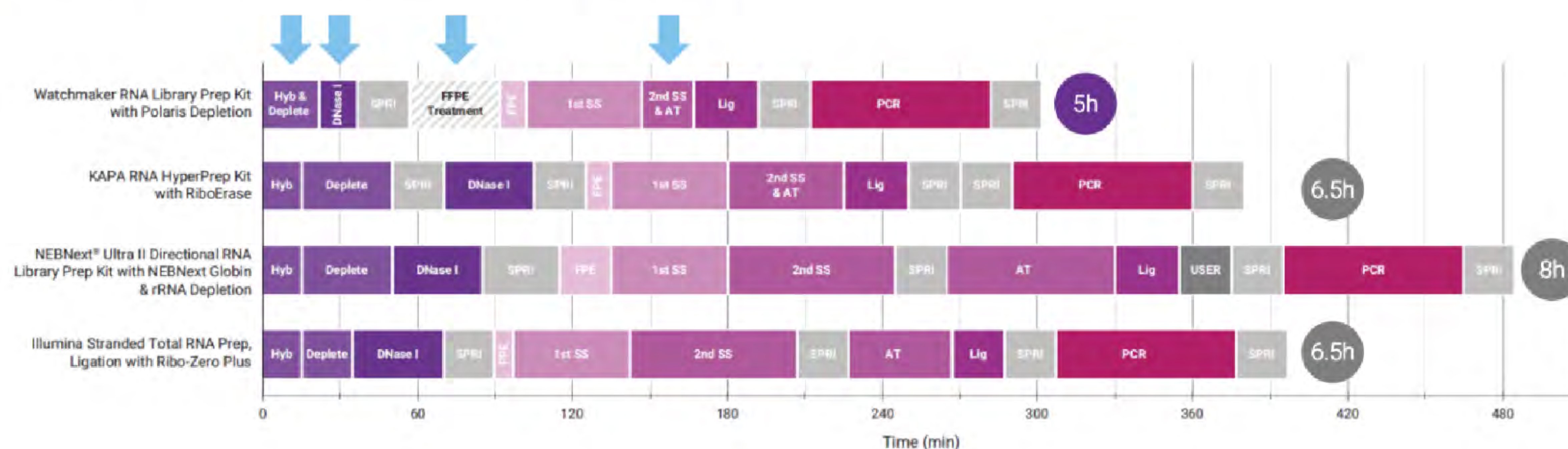
扩增效率与 Equinox Library Amplification Kit 相当

RNA文库制备试剂盒(rRNA/Globin去除)

产品亮点:

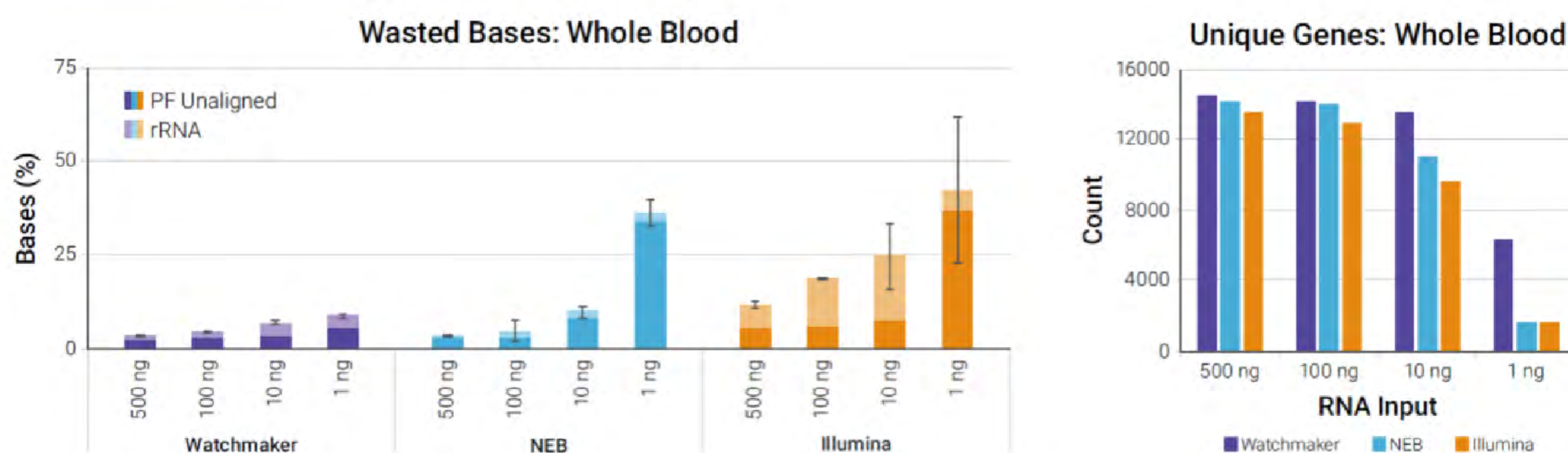
- § 10ng - 1μg 起始, 低起始量和降解样品表现稳健
- § 杂交和RNA酶解“一步法”, 且无需纯化
- § rRNA及Globin残留低, 测序经济性和低丰度转录本灵敏度高
- § 定向进化RT酶, 耐高温和抑制剂, 具有模板转换活性(TSA), 高合成效率

目前市场上最简捷的RNA测序工作流程



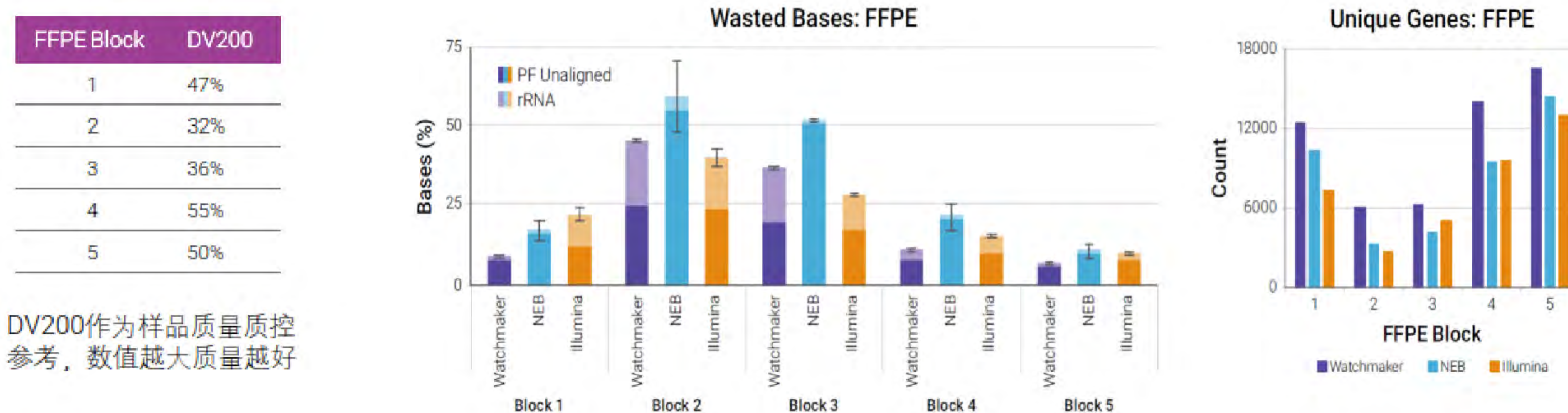
产品性能:

rRNA/Globin残留 & 转录本多样性 (全血)



在低起始量条件下, Watchmaker显示出更出色的测序经济性和更多的独特转录本的检出, 可低至1ng。

rRNA/Globin残留 & 转录本多样性 (FFPE-RNA, 100ng)



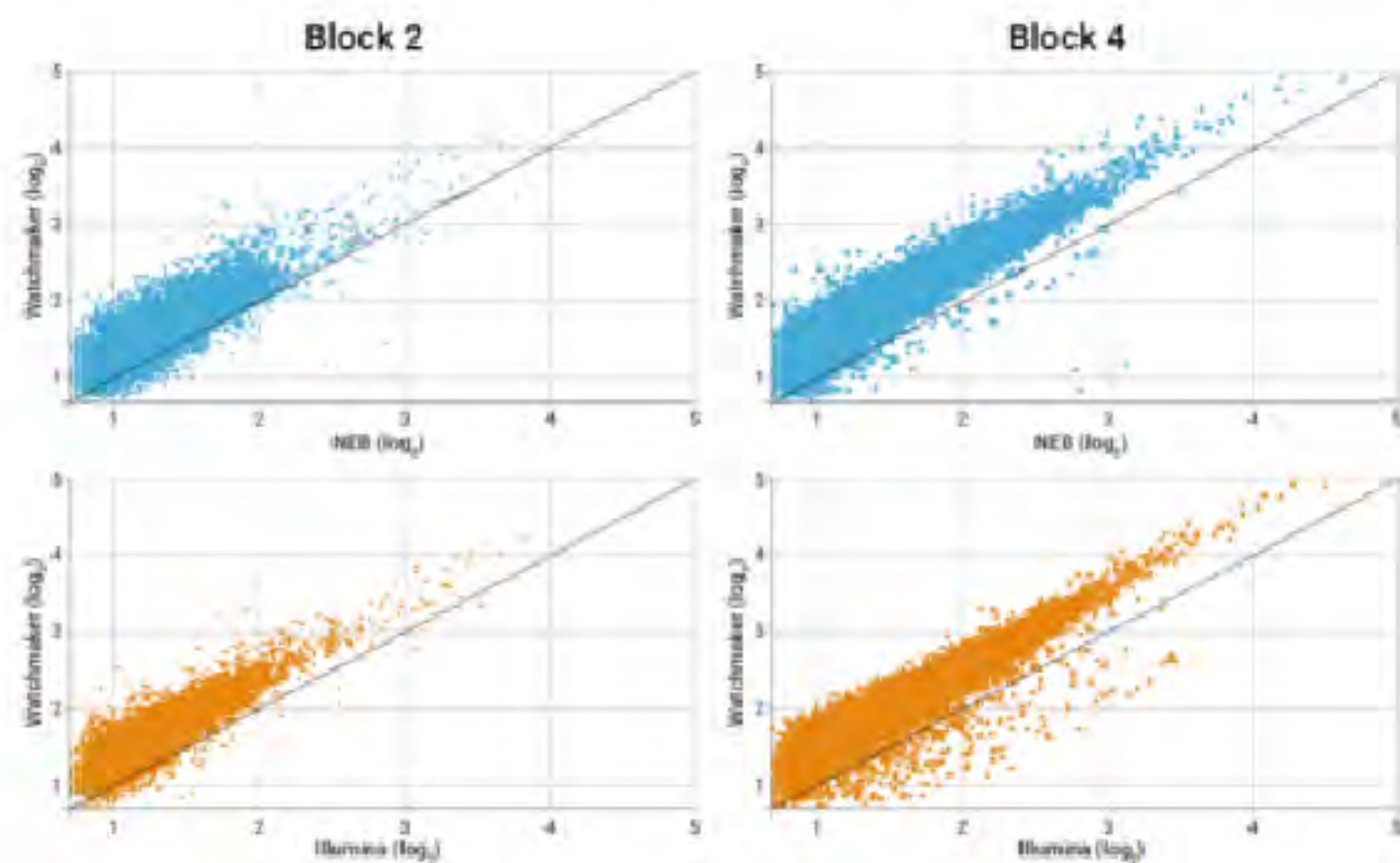
DV200作为样品质量质控参考, 数值越大质量越好

在各种FFPE降解程度下, Watchmaker可检出更多的独特转录本, 获得更好的文库复杂度。

低起始量样品的文库复杂度

转录本检测灵敏度

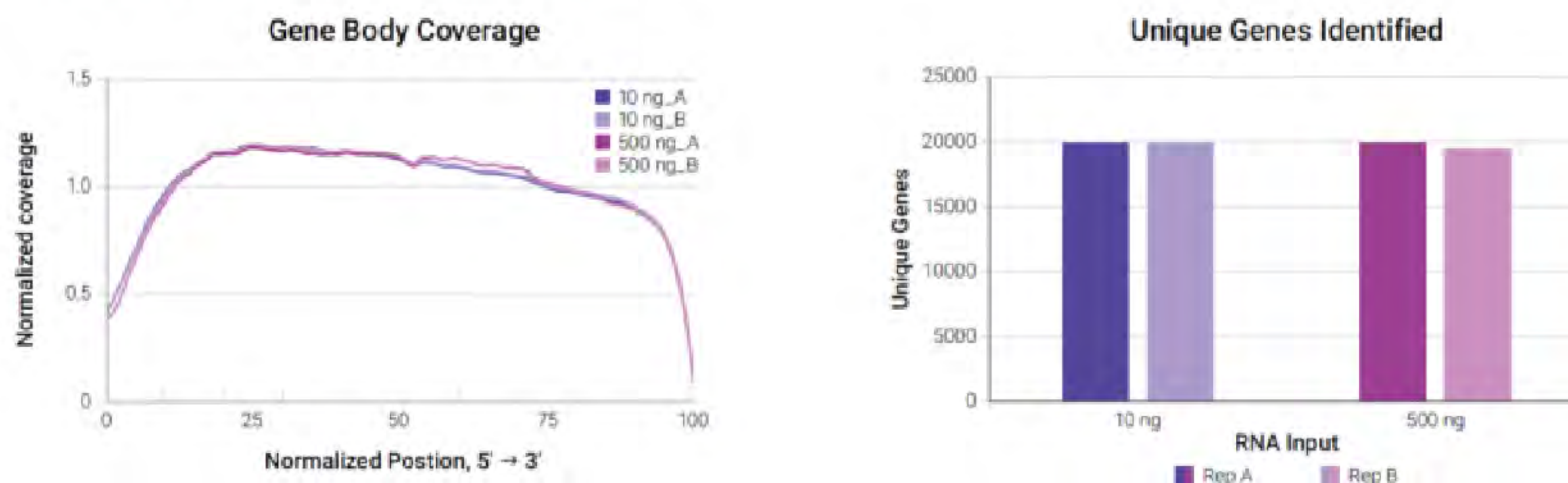
每基因读取数的对比



在降解条件下, Watchmaker比同类产品在每个基因上有更多的读取覆盖。

基因表达分析

转录本覆盖均一性及独特基因数



10ng、500ng起始量, 各2个技术重复
不同起始量条件下, 高度重现出色的转录本覆盖均一性及独特基因数。

StellarScript系列逆转录酶

应用:

一链cDNA合成

逆转录qPCR (一步法 & 两步法)

逆转录PCR

引物延伸

RNA-Seq测序

模板转换 (Template Switching), 用于SMART-Seq和scRNA-Seq等

StellarScript RT家族一览

	StellarScript	StellarScript HT	StellarScript HT+
Optimal activity	42°C	42 - 50°C	50 - 65°C
Thermostability	+	++	+++
Template switching activity	+	-	+
Inhibitor tolerance	Varies by inhibitor; see next slide		

等同使用:

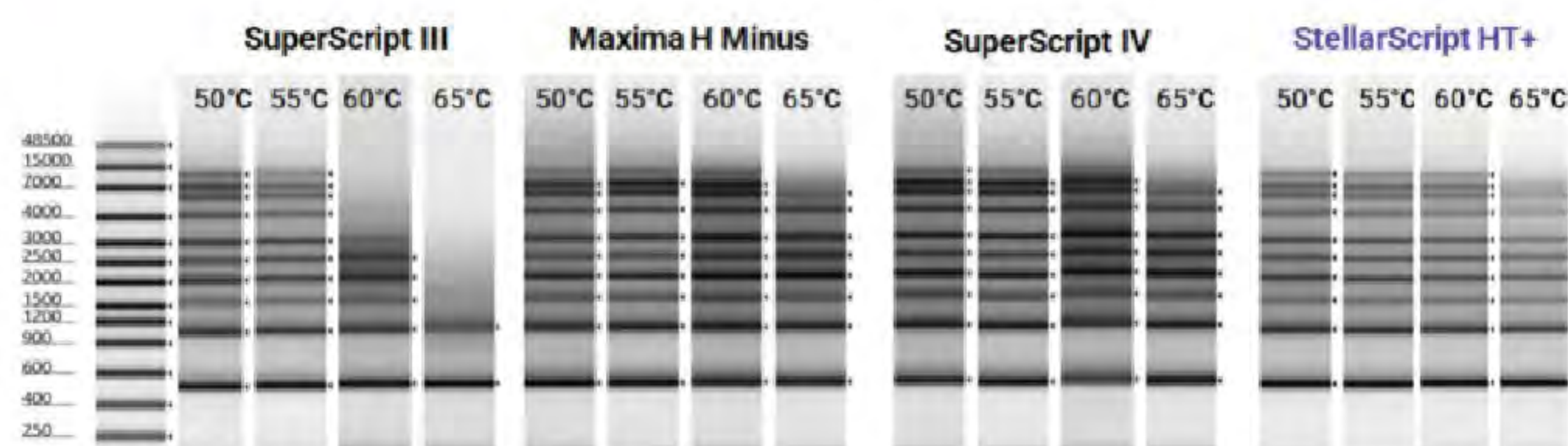
✓ StellarScript ≈ SuperScript II

✓ StellarScript HT ≈ SuperScript III

✓ StellarScript HT+ ≈ SuperScript IV

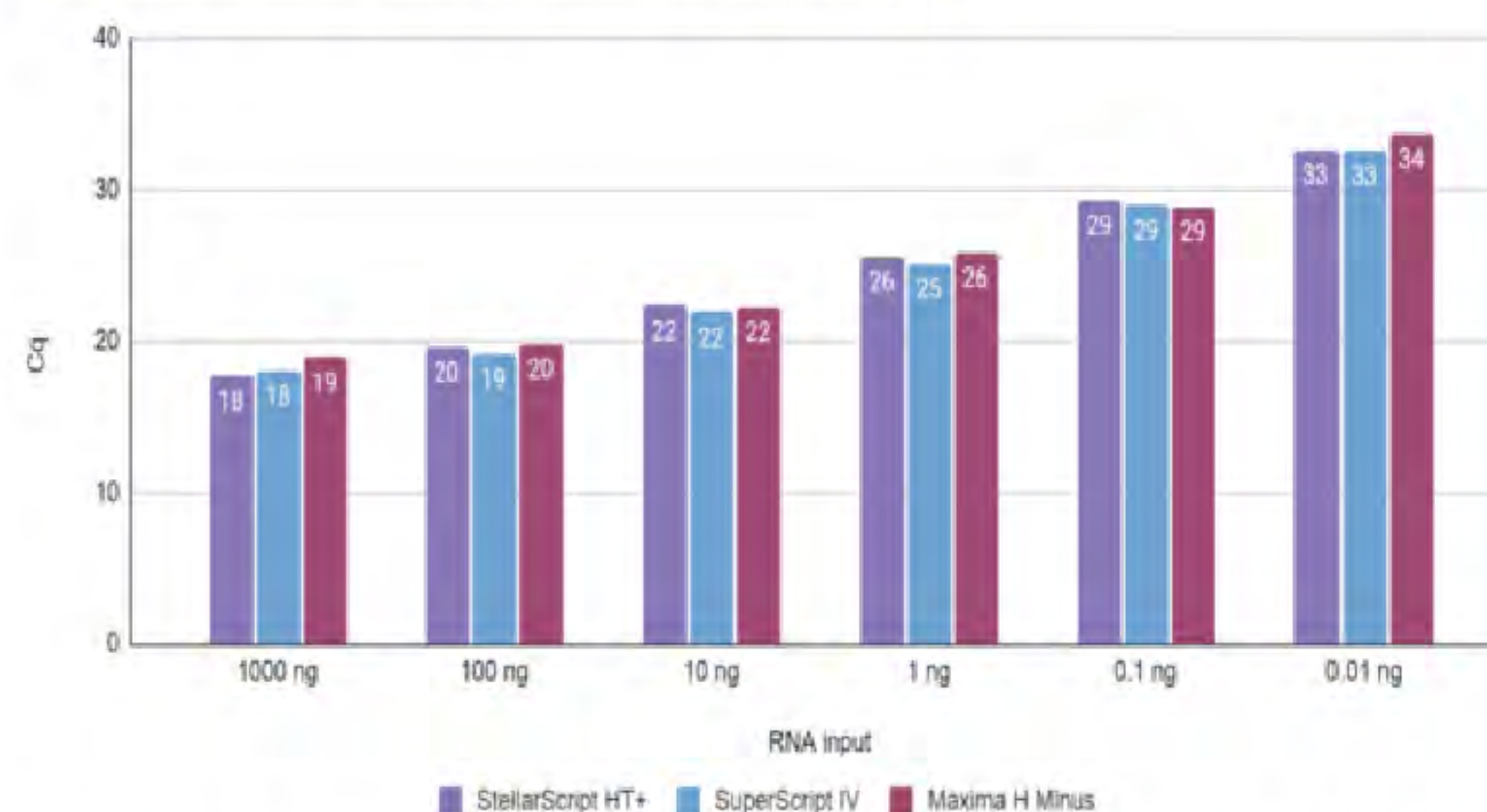
产品性能

合成性及酶活性



用0.5 - 9 kb的RNA ladder为模板, 进行第一链合成。
StellarScript HT+与SuperScript IV和Maxima H Minus在60-65°C的合成性相当。

5-Fold起始范围灵敏度



以1000 ng至0.01 ng的总肝RNA作为模板, 用oligo-dT和随机引物在50°C下进行第一链合成。
StellarScript HT+与SuperScript IV和Maxima H Minus的灵敏度相当。

多重高保真PCR试剂盒

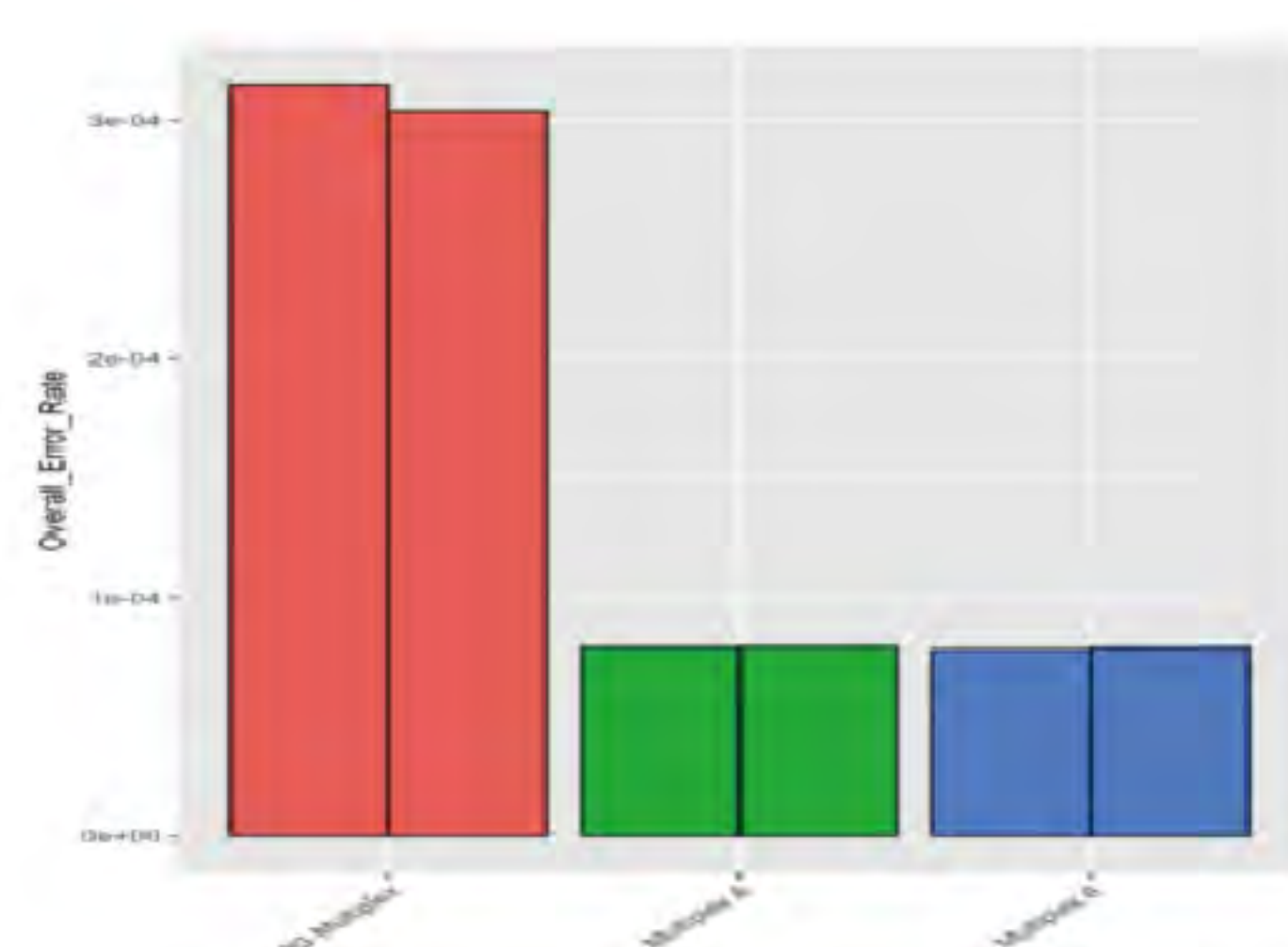
产品亮点：

- § 适用NGS和终点法多重PCR应用
- § 兼得“多重”和“保真”特性的进化酶
- § 高效、均一地扩增多重靶标, 平均重数可达数百重 (尚无系统性测试数据)
- § 高覆盖、低脱靶、低GC偏好
- § 高灵敏度, 起始量低至1ng
- § 高PCR效率, 特异性产物>1000ng
- § 支持长链靶标的多重扩增, 扩增子长度>850bp
- § 出色的保真性, 较低的错配和嵌合率

产品性能：

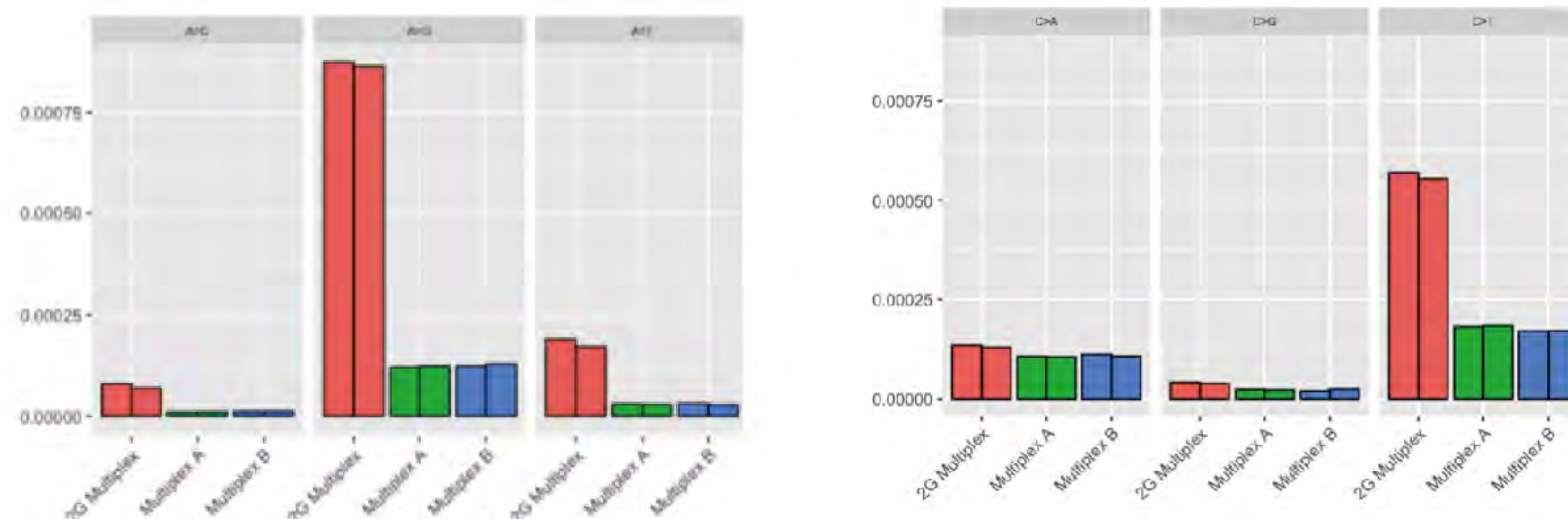
高保真表现

1.整体错误率



96重PCR中, Multiplex A和B的整体扩增错误率远低于KAPA2G Multiplex。

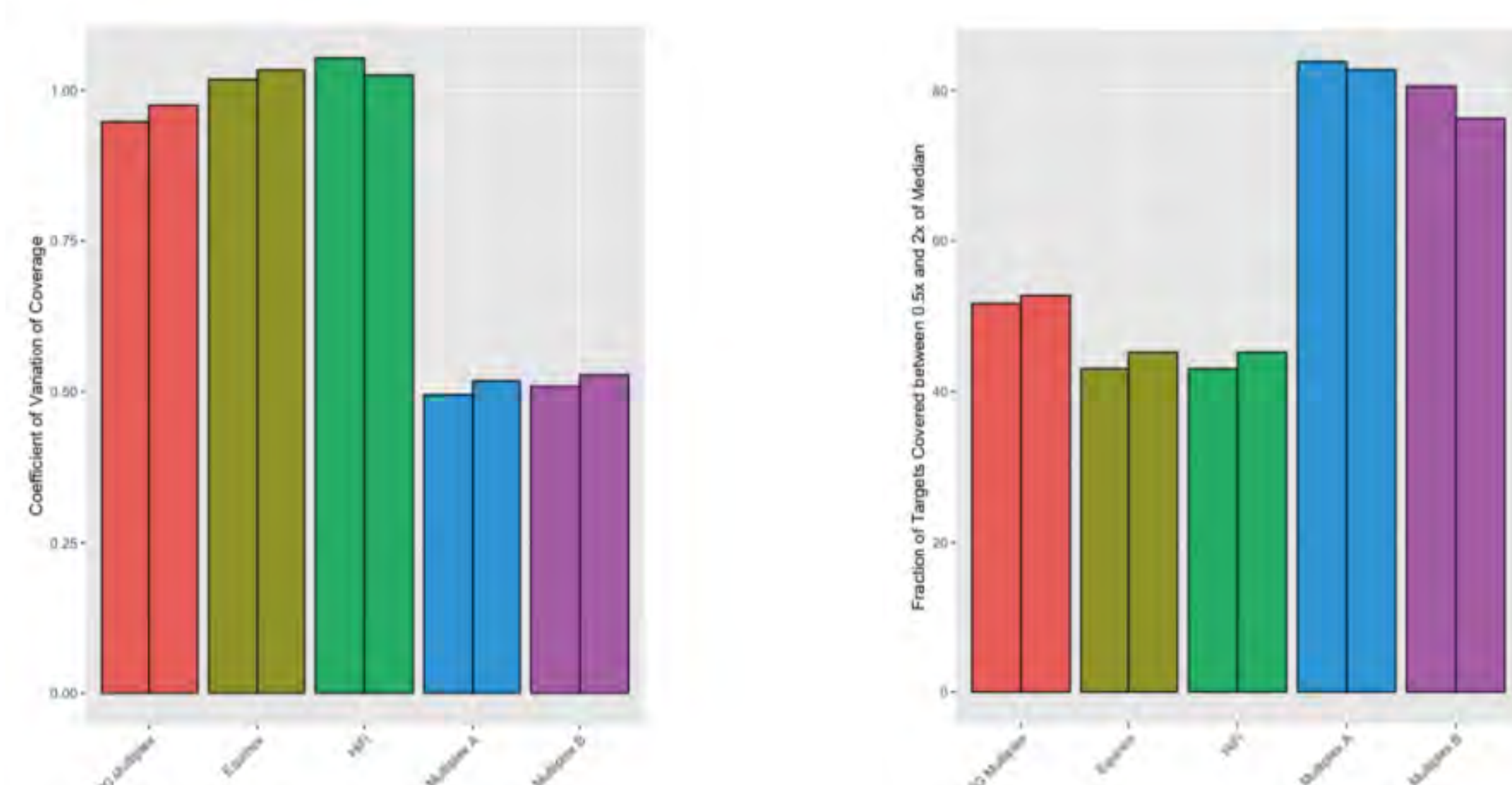
2.分碱基突变类型的错误率



Multiplex A和B的分碱基突变类型的错误率全部低于KAPA2G Multiplex: A>G, A>T, C>T的保真性优势更为显著。

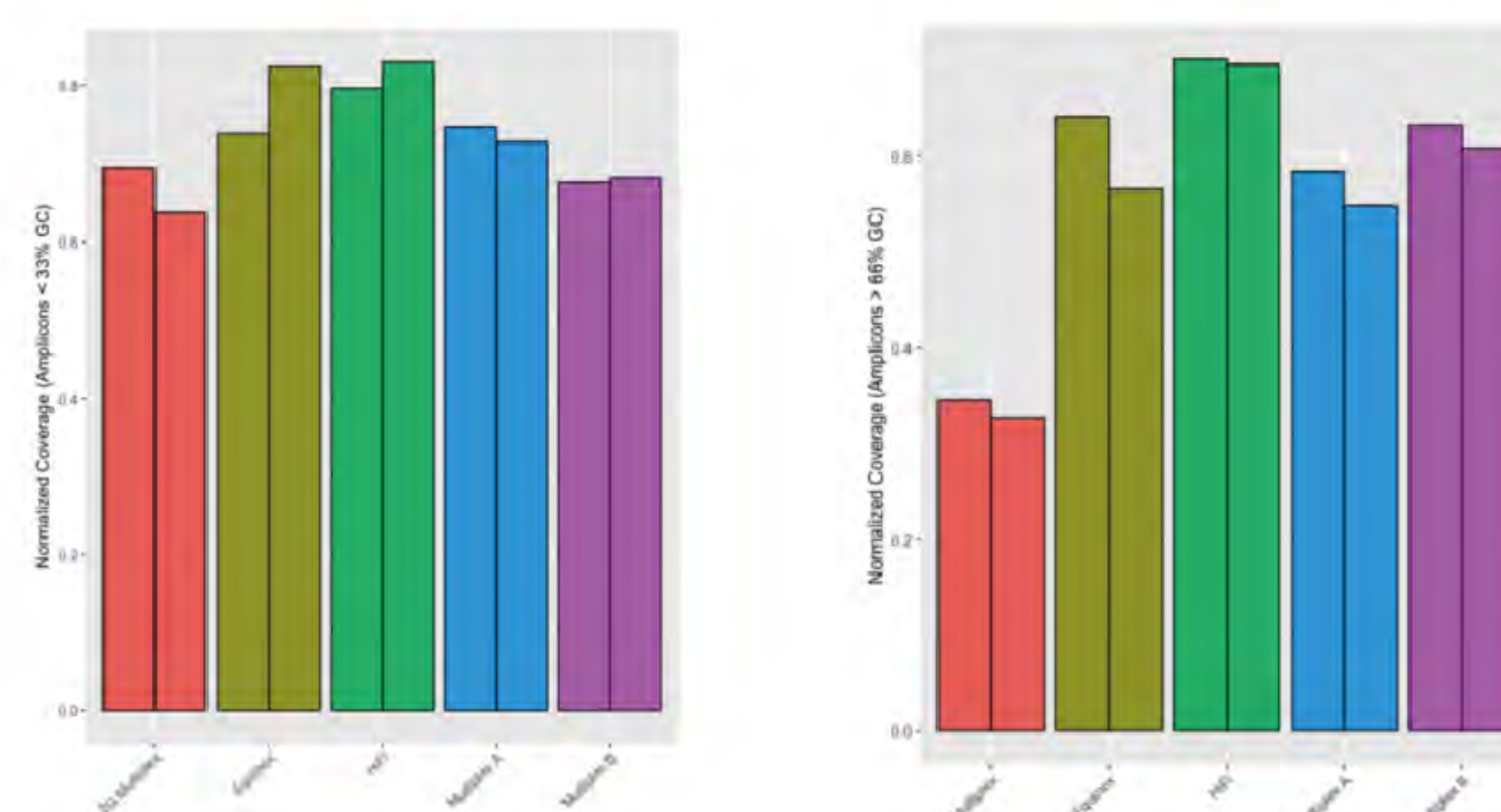
多重PCR靶区覆盖度和均一性表现

1.靶区覆盖度和差异系数 (均一性)



96重PCR, 1ng起始, 靶区差异系数 (左) 及覆盖度 (右): Multiplex A和B比KAPA2G Multiplex覆盖更均一, 覆盖度更高。

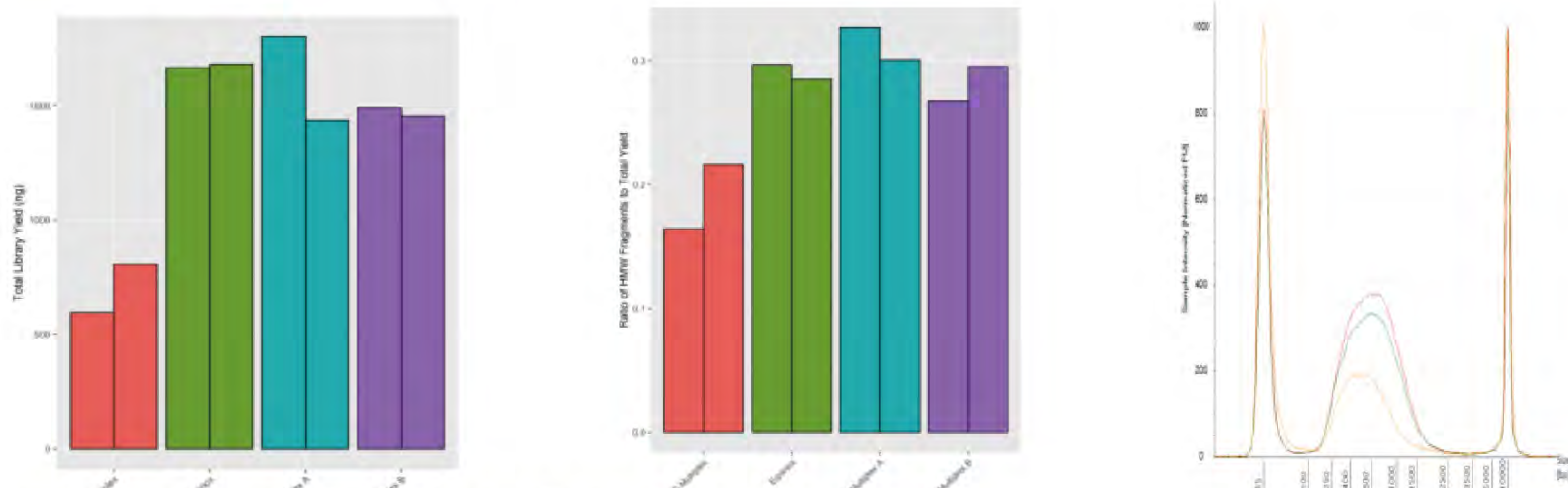
2.在模板GC<33%及>66%情况下的覆盖度



96重PCR, 1ng起始, GC<33% (左) 及 >66% (右) 的覆盖度: Multiplex A和B在高GC含量靶区的覆盖度优于KAPA2G Multiplex。

长链靶标的扩增表现

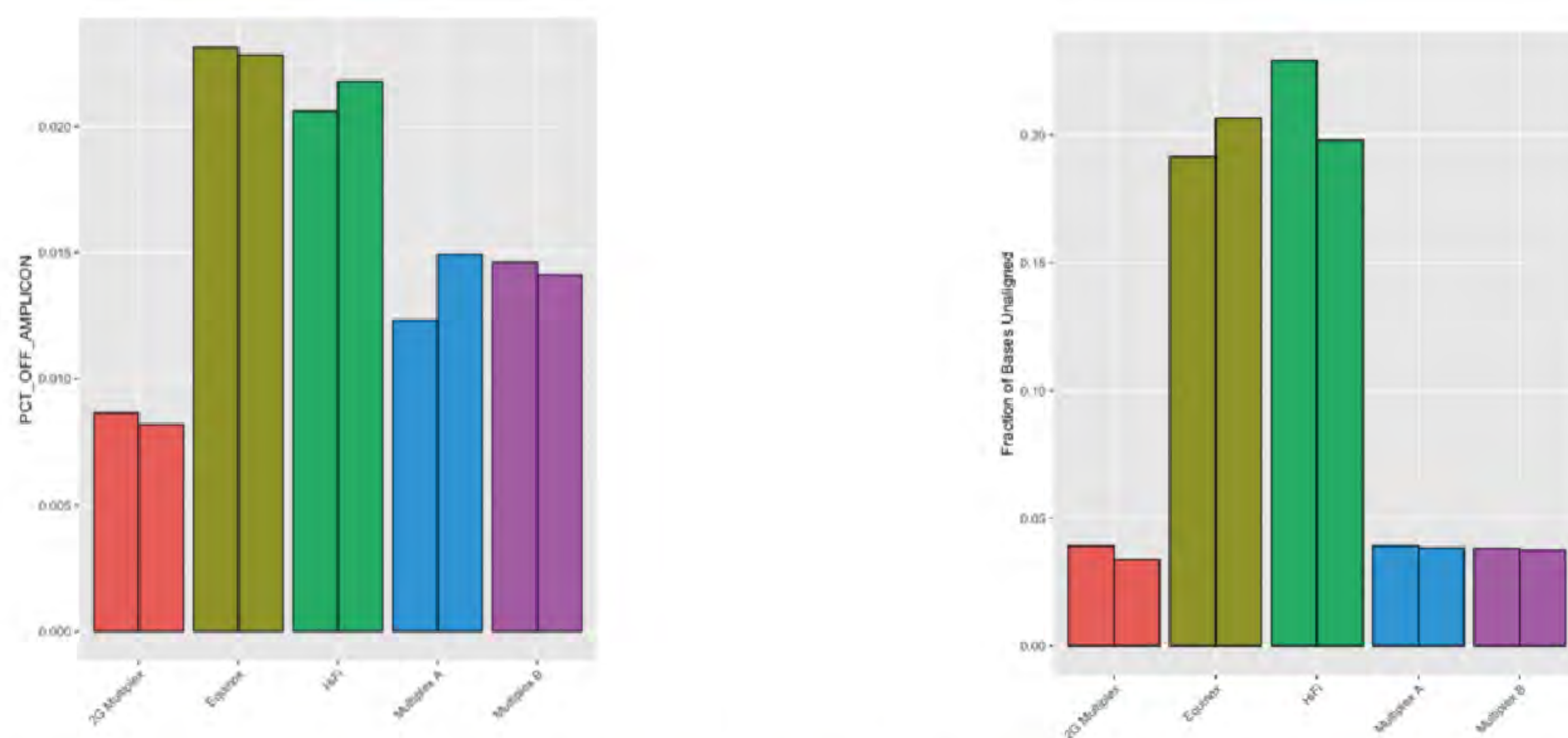
1. 长链靶标扩增效率及片段分析



起始模板平均片段化至650bp进行多重扩增及建库测序：

Multiplex A和B对长链扩增的效率优于KAPA2G Multiplex (左), 且>850bp的扩增子比例达到30% (中), 高于2G Multiplex。

脱靶率和碱基Mapping率



96重, 1ng起始, 脱靶扩增子比例 (左) 及碱基不匹配率 (右): Multiplex A和B均与KAPA2G相当。

T4 DNA Ligase

产品简介：

T4 DNA Ligase 是ATP和Mg²⁺依赖的dsDNA连接酶, 催化双链DNA、双链RNA和DNA/RNA杂交体的3' -OH和5' -磷酸化末端之间形成磷酸二酯键。在平末端和粘性末端底物上均有活性。

应用：

- § 限制性内切消化和PCR产物的克隆
- § DNA连接接头或连接器
- § 定点诱变

- § 扩增片段长度多态性 (AFLP)
- § DNA切口修复
- § DNA自环化

订购信息

NGS:

类别	产品名称	货号	规格
DNA	DNA建库试剂盒(酶片段化)	K0019	24/96/384次
	DNA建库试剂盒(酶片段化, 无扩增)	K0013	24/96/384次
	DNA建库试剂盒(酶片段化, 无引物)	K0022	24/96/384次
	DNA建库试剂盒	K0030	24/96次
	DNA建库试剂盒(无扩增)	K0029	24/96次
	DNA建库试剂盒(无引物)	K0072	24/96次
RNA	Polaris核糖体RNA/球蛋白去除试剂盒(人/鼠)	K0077	24/96次
	RNA建库试剂盒(无Polaris去除)	K0078	24/96次
Equinox	Equinox文库扩增试剂盒	K0014	24/96/384 or 3-1000mL
	Equinox文库扩增试剂盒(无引物)	K0021	24/96/384 or 3-1000mL
Equinox U-Talerant	Equinox Uracil+文库扩增试剂盒	K0023	24/96/384 or 3-1000mL
	Equinox Uracil+文库扩增试剂盒(无引物)	K0028	24/96/384 or 3-1000mL

Enzymes:

类别	产品名称	货号	规格
T4连接酶	T4 DNA连接酶样品试剂盒(120 U/uL)	K0010	500uL
	T4 DNA连接酶+/-各种缓冲液	K0039/K0040等	0.5/5/25/100mL
	T4 DNA连接酶样品试剂盒(120 U/uL, DTT-)	K0016	500uL
	T4 DNA连接酶DTT-Free +/-各种缓冲液	K0035/K0036等	0.5/5/25/100ml
	T4 DNA连接酶样品试剂盒(600 U/uL)	K0009	500uL
	T4 DNA连接酶+/-各种缓冲液	K0004/K0025等	0.5/5/25/100mL
	T4 DNA连接酶样品试剂盒(600 U/uL, DTT-)	K0015	500uL
	T4 DNA连接酶DTT-Free +/-各种缓冲液	K0031/K0032等	0.5/5/25/100mL
T4 DNA酶	T4 DNA聚合酶(3 U/uL)	K0075	0.5/1ml
Phi29酶	phi29 DNA聚合酶试剂盒	K0051	0.1/0.25/1.25mL
PNK酶	T4多聚核苷酸激酶(10U/uL)+/-缓冲液	K0018/K0046	0.25/1/5ml
KOD酶	KOD exo(-)DNA聚合酶(2.5 U/uL)	K0011	0.1/1ml
GP32蛋白	T4 GP32蛋白(10 mg/mL, DTT-)	K0071	25/50/500uL
Taq酶	Taq DNA聚合酶(5 U/uL)	K0074	0.5/1mL
RNase Inhibitor	RNA酶抑制剂(40 U/uL)		40 U/uL



订购信息：

PCR：

类别	产品名称	货号	规格
高保真PCR	Equinox PCR预混液	K0073	3/10mL
	Equinox Uracil+ PCR预混液	K0024	3/10mL
逆转录PCR	StellaScript逆转录酶试剂盒	K0080	50/200uL
	StellaScript HT逆转录酶试剂盒	K0080	50/200uL
	StellaScript HT+逆转录酶试剂盒	TBD	50/200uL
多重高保真PCR	多重PCR试剂盒	K0068	100/500次
鲁棒PCR	aCat77 PCR试剂盒	TBD	100uL
基因组装PCR	基因组装试剂盒	K0002	100/500/10K



杭州沃森生物技术有限公司
WOOSSEN BIOTECHNOLOGY

地址：浙江省杭州市西湖区西园八路11号
数字信息产业园A座4层
电话：0571-86495259
E-mail: service@ws-bio.com

