

SNP 基因分型服务

S N P G E N O T Y P I N G S E R V I C E

服 务 科 技 创 新 ， 护 航 人 类 健 康 ！



上海伯豪生物技术有限公司
SHANGHAI BIOTECHNOLOGY CORPORATION

目录 CONTENTS



- 04 SNP基因芯片
- 15 基因组测序
- 17 MassARRAY质谱基因分型
- 19 基于多重PCR的SNP基因分型

公司介绍

服务科技创新，护航人类健康!

上海伯豪生物技术有限公司(以下简称“伯豪生物”)2008年12月成立,是一家以科技服务、疾病与健康检测、分子检测产品的开发和生产为主营业务的高新技术企业。公司形成了面向科研和临床的系统技术服务平台,提供全基因组测序、生物信息分析、标志物筛选和分子检测验证、基因功能验证科研一站式服务,同时提供试剂盒开发、生产以及检测应用的转化医学的临床一站式服务。伯豪生物携手各参控股子公司重庆伯豪医学检验所(临床医学检测专业子公司)、伯豪医药(医疗器械经营专业子公司)和迅伯生物(产品研发和GMP生产专业子公司)共同开启“专业服务成就科学发现,产业布局构筑精准医学”的新篇章。



高新技术企业



国家基因检测技术应用示范中心



浦东新区企业研发机构



芯片中心专家委员会

国际一流质量标准

伯豪生物建立了规范化的质量控制体系,通过了ISO9001:2015质量管理体系的认证,并参照GLP-L的标准,通过156个SOP文件对项目、样品、实验过程、生物信息分析过程、数据信息管理、保密等进行严格质控。



多样化的服务平台

伯豪生物多样灵活的服务平台，系统的生物学研究解决方案，全力加速您组学研究的进程！



丰富的项目经验

伯豪生物从事技术服务15年，承接项目数超过15000个，用户单位5000家以上，协助客户发表SCI论文1500余篇（影响因子共计7000多分），全面推动中国基因组学服务产业的发展。



客户分布网络图



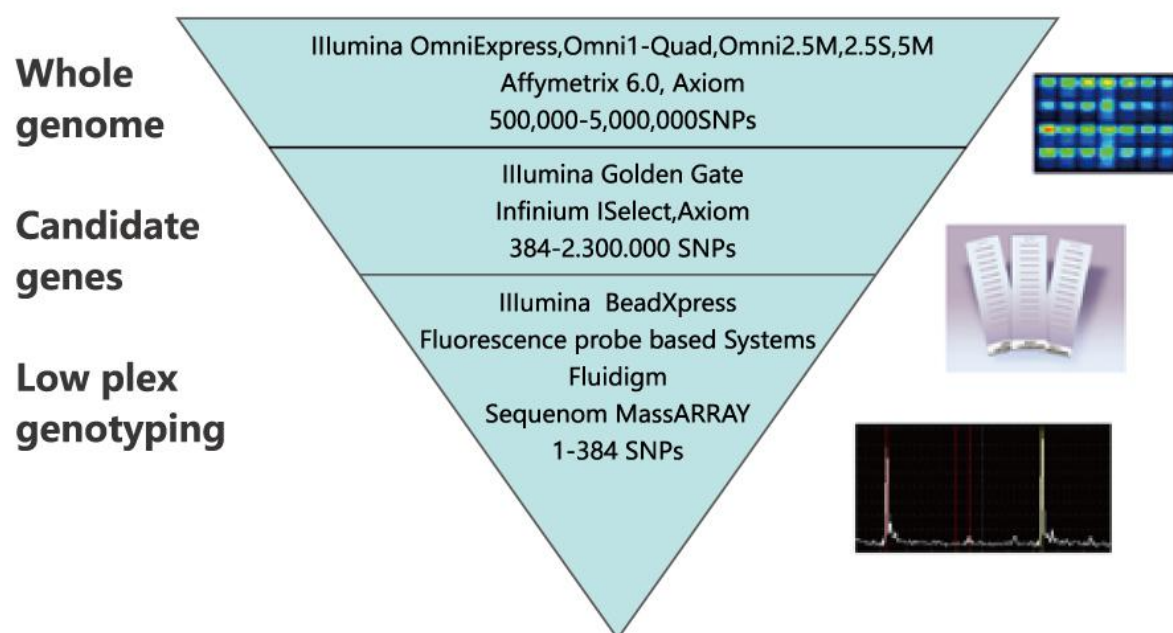
伯豪生物协助客户发表相关文章

单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs)主要是指在基因组水平上由单个核苷酸的变异所引起的DNA序列多态性。SNP作为一种常见的遗传标记,可用于遗传疾病基因或经济性状基因的连锁定位、克隆和鉴定;复杂疾病的关联分析;肿瘤易感基因和热点突变的鉴定;精准医疗;种群进化、迁徙等研究。

SNP的分型技术有很多,高通量的方法有测序、芯片等;中低通量的方法有定量PCR、引物延伸、溶解曲线等,基于多重PCR和高通量测序相结合的SNP分型,因其性价比高的特点也是中高通量SNP分型检测的不错的选择。

伯豪生物SNP基因分型服务一览

低通量	中高通量	高通量
Sanger测序	多重PCR的SNP基因分型	Affymetrix SNP芯片
Taqman SNP分型	MassARRAY质谱基因分型	Illumina SNP芯片
Snapshot SNP分型		全基因组重测序
		全外显子组测序
		目标区域捕获测序



SNP检测平台 (通量比较)

SNP基因芯片

伯豪生物拥有全面的高通量基因分型平台——Affymetrix GeneChip® 芯片平台、Affymetrix GeneTitan®芯片平台和Illumina光纤微珠芯片平台，以及专业的分析团队和高效的生物信息服务器，为科研工作者提供全面的基因分型和生物信息分析服务。

01 Affymetrix SNP芯片服务

美国 Affymetrix公司开发的寡核苷酸原位光刻合成专利技术(light-controlled in situ synthesis of DNA microarrays)，是目前最高密度的芯片制备技术。Affymetrix GeneChip®生物芯片检测系统是世界上第一种经欧盟和美国FDA批准的可作为体外诊断的芯片系统。

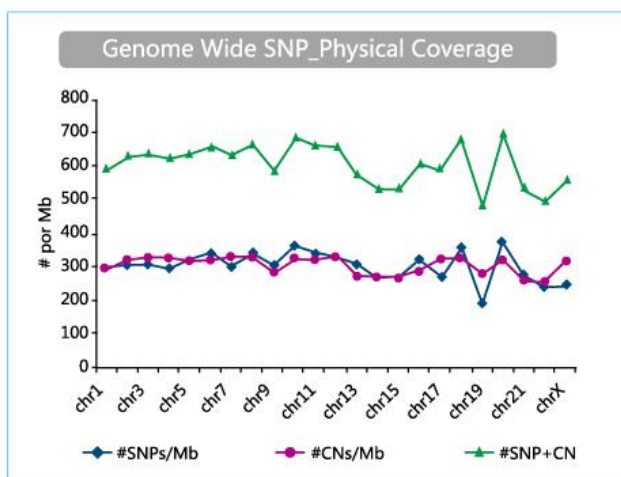
GeneTitan®仪器以及业界公认的Affymetrix®高通量(HT)芯片板为芯片处理带来了第一个无需手动的自动化方案。Affymetrix GeneTitan®将杂交、洗涤和成像无缝整合到一台仪器中，具有以下优点：

- 1, **扩展性**：GeneTitan®平台可选择多样的芯片板形式，从而达到通量的扩展；
- 2, **高效**：手动操作时间仅30分钟，可无人值守；
- 3, **灵活**：通过多种芯片板完成不同的实验目的；
- 4, **准确**：实验条件的稳定可产生具有高度可重复性的数据。

基于GeneChip 平台的基因分型芯片

芯片推荐 Genome-Wide Human SNP Array 6.0

芯片介绍：Affymetrix Genome-Wide Human SNP 6.0芯片产品涵盖超过1,800,000个遗传变异标志物：包括超过906,600个SNP和超过946,000个用于检测拷贝数变化（CNV, Copy Number Variation）的探针：



Affymetrix SNP6.0 芯片物理覆盖度

- 482,000个SNP来自于前代产品500K和SNP5.0芯片；
- 424,000个SNP包括国际HapMap计划中的标签SNP，X，Y染色体和线粒体上具有代表性的SNP,以及来自于重组热点区域和500K芯片设计完成后新加入dbSNP数据库的SNP；
- 202,000个用于检测5,677个已知拷贝数变异区域的探针，这些区域来源于多基因组变异体数据库。该数据库中3,182个非重叠片断区域平均用61个探针来检测；
- 744,000个探针平均分配到整个基因组上，用来发现未知的拷贝数变异区域。

芯片推荐 **DMET™ Plus**

芯片介绍：人类基因组上的差异（SNP、插入、缺失、复制等）会导致不同个体对同一药物产生不同的反应。针对这种情况，Affymetrix推出了DMET（Drug-Metabolizing Enzymes and Transporters）Plus完整解决方案。它能检测225个基因中与药物代谢和转运有关的1936个分子标记。这些分子标记已经在不同种族、至少1200个个体中验证。通过检验不同个体分子标记的差异，研究者们可以发现药物发挥不同作用的遗传机制，从而决定药物的剂量和使用对象。

基于GeneTitan平台的Axiom®基因分型芯片

Axiom®基因分型解决方案为您提供多种芯片。您可以选择要研究物种的自定义内容，也可以选择来自Axiom®基因组数据库的基因型经过验证的内容。

强大 ● 对任何物种、任何基因组规模 and 任何倍性水平进行基因分型

- Axiom®分析可检测插入或缺失（InDel）并保证包含所有候选SNP
- 与相邻SNP最近可达20 bp，实现了更高效的QTL分析

可靠 ● 低至100 ng DNA，即可获得基因分型结果，适用于各种样本类型

- 基因型检出率 ≥ 99%

扩展 ● 完全自动化的流程，每周可处理最多8张芯片板，而无需增加人工或仪器

- 一张芯片板上有96个或384个样本，检测每个样品多达260万个变异

芯片推荐 **Axiom® Precision Medicine Research Array (PMRA) ——精准医疗研究芯片**

作为一款高密度SNP芯片，SNP标记平均覆盖了全基因组，满足全基因组关联分析和遗传连锁分析的需要；PMRA提供了来自新的1000 Genome Phase III和更新至2016年5月份的NHGRI-EBI GWAS catalog数据库中的内容，为关联分析提供更精准的标记；

囊括已经临床验证的致病位点；

覆盖来自GWAS研究的癌症相关常见变异（common variants）；

覆盖了免疫和转移相关的变异，包括HLA和KIR相关的marker，并可使用Axiom HLA分型软件进行HLA分型；

包括了血细胞表型相关的marker，和血液病学GWAS研究中得到的结果；

与其它分型平台共享了一些fingerprintSNPs，可用于追踪样本。

Axiom芯片产品目录

芯片名称	物种	位点数	最少样本数
人类			
Axiom® Precision Medicine Research Array	人	~903K	96
Axiom® Genome-Wide Population-Optimized Human Arrays	人	~1.2M	96

芯片名称	物种	位点数	最少样本数
动物			
Axiom® Equine Genotyping Array	马	~671K	192
Axiom® Porcine Genotyping Array	猪	~659K	192
Axiom® Trout Genotyping Array	鳟鱼	~58K	192
Axiom® Trout Genotyping Array 384-format	鳟鱼	~58K	768
Axiom® Genome-Wide BOS 1 Array Plate Genotyping Bundle 1	牛	~640K	192
Axiom® Genome-Wide Chicken Genotyping Array	鸡	~580K	192
Axiom® Buffalo Genotyping Array	水牛	~90K	192
Axiom® Salmon Genotyping Array	三文鱼	~130K	192
植物			
Axiom® Soybean Genotyping Array	大豆	~181K	192
Axiom® Cotton Genotyping Array	棉花	~36K	192
Axiom® Wheat 820k Genotyping Array Plate A	小麦	~820K	96
Axiom® Wheat 820k Genotyping Array Plate B	小麦	~820K	96
Axiom® Wheat Breeder's Genotyping Array	小麦	~35K	768
Axiom® Strawberry Genotyping Array	草莓	~90K	192
Axiom® Maize Genotyping Array	玉米	~600K	192
Axiom® Rose Genotyping Array	玫瑰	~69K	192
Axiom® Rice Genotyping Array	水稻	~43K	192
个性化定制			
Axiom® myDesign™ Human Genotyping Arrays	人	1K-2.6M	≥480
Axiom® myDesign™ Genotyping Arrays for Agrigenomics	动植物	1K-2.6M	≥480

样本准备

1. 样品纯度：OD_{260/280}值应在1.7 ~ 2.0 之间, A₂₆₀/A₂₃₀ > 1.5；RNA 应该去除干净；不含有其它个体或其它物种的DNA污染。
2. 样品浓度：浓度不低于55ng/μl；
3. 样品总量：每个样品总量不少于2μg。
4. 样品溶剂：溶解在Reduced TE中。
5. 样品运输：DNA低温运输（-20℃）；在运输过程中请用parafilm将管口密封好，以防出现污染；



实验流程

DNA
提纯和质检芯片
样品准备

标记

杂交

洗涤
和染色

扫描

质控

数据
分析

02/Illumina SNP芯片服务

Illumina 公司以测序业务闻名，而其在生物芯片方面的业务也具有不可忽视的优势和竞争力。Illumina SNP Genotyping采用激光共聚焦微珠芯片技术（BeadArray™），可对全基因组或特定SNP位点进行分析，其检测质量可靠，得到业界所广泛认可。Illumina SNP芯片平台拥有多种系列芯片，包括已广泛成熟应用的基于人类HapMap和1000G数据库设计的Omni芯片家族；动植物基因分型芯片以及灵活的高通量Infinium iSelect定制芯片。

产品目录

芯片名称	物种	位点数	最少起订量
人类			
Infinium OmniZhongHua-8 Kit	人类	~900K	---
Infinium Omni5-4 Kit	人类	~4.3M	16
Infinium Omni2.5-8 Kit	人类	~2.4M	16
Infinium OmniExpress-24 Kit	人类	~713K	48
Infinium OmniExpressExome-8 Kit	人类	~960K, 含274K 外显子位点	16
Infinium Omni2.5Exome-8 Kit	人类	~2.6M, 含364K 外显子位点	16
Infinium Omni5Exome-4 Kit	人类	~4.5M, 含529K 外显子位点	16
Infinium CoreExome-24 Kit	人类	~552K, 含270K 外显子位点	48
Infinium Core-24 Kit	人类	~307K, 含41K 外显子位点	48
Infinium Exome-24 Kit	人类	~243K外显子区域位点	48
Infinium ImmunoArray-24 v2 BeadChip Kit	人类	~254K, 含250K 免疫相关位点	48
Infinium OncoArray-500K Kit	人类	~500K, 含250K 癌症相关位点	48
Infinium PsychArray-24 Kit	人类	~589K, 含50K 精神病相关位点	48
动植物			
Bovine HD BeadChip	牛	~770K	48
Bovine LD Genotyping BeadChip	牛	~8K	48
BovineSNP50 DNA Analysis BeadChip	牛	~50K	48
Canine HD BeadChip	犬	~170K	48
Ovine SNP50 BeadChip	羊	~50K	48

芯片名称	物种	位点数	最少起订量
动植物			
Porcine SNP60 BeadChip	猪	~60K	48
Maize LD BeadChip	玉米	~3K,	48
Maize SNP50	玉米	~50K	48
个性化定制			
iSelect HD Custom Genotyping BeadChips	定制	3k-90k	24
iSelect HTS Custom Genotyping BeadChips	定制	90k-700k	24

注：更多动植物物种芯片产品请参见Illumina官方产品目录。

芯片推荐 Infinium OmniZhongHua-8 Kit

覆盖了中国人特有常见和稀有变异，是第一款人类种群特异的全基因组芯片。

经过优化的标签SNP内容来自HapMap所有三个阶段以及千人基因组计划（1kGP），可用于在中国人种群中探索全新的疾病和性状关联。

特别覆盖中国人81%的常见变异（MAF > 5%）和60%的稀有变异（MAF > 2.5%），适合全基因组关联研究（GWAS）。

采用Illumina专利的BeadArray™技术，可提供非常高的数据质量，平均检出率 > 99%，重复率 > 99.9%。

芯片推荐 Infinium Asian Screening Array

70万个标记，覆盖东亚及东南亚人群参考基因组

基因组骨架基于9000+亚洲人全基因组测序数据（15-30X）优化获得

高覆盖已知可解释遗传变异——Clinvar数据库，几乎涵盖目前可解释的所有SNP位点。

CNV探针升级：可进行100多种疾病，2,258个基因4000多个CNV结构变异检测。

遗传病基因广泛覆盖：涵盖美国医学遗传学与基因组学学会（ACMG）推荐的58个基因，用于遗传病研究。

药物基因组研究芯片：涵盖CYP2D6、G6PD、CYP2C9、SLCO1B1、CYP 2C19等常见药物代谢基因的373个star alleles和CNV。

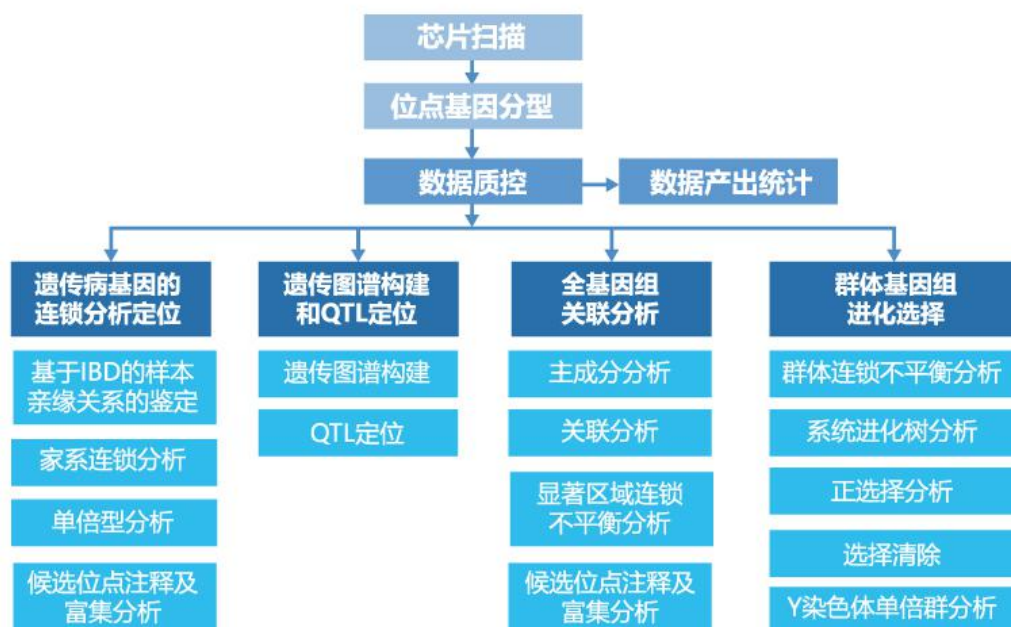
样本准备

1. DNA样品纯度：OD 260/280值应在1.7~2.0之间，A260/A230 > 1.5；RNA应该去除干净；不含有其它个体或其它物种的DNA污染；
2. DNA样品浓度：浓度不低于55ng/μl；
3. DNA样品总量：每个样品总量不少于1μg；
4. 血液样本：EDTA抗凝，2ml，-20℃冰箱保存；
新鲜冰冻组织：液氮冷却、-80℃冰箱保存；
5. 样品运输：DNA低温运输（-20℃）；在运输过程中请用parafilm将管口密封好，以防出现污染。

实验流程



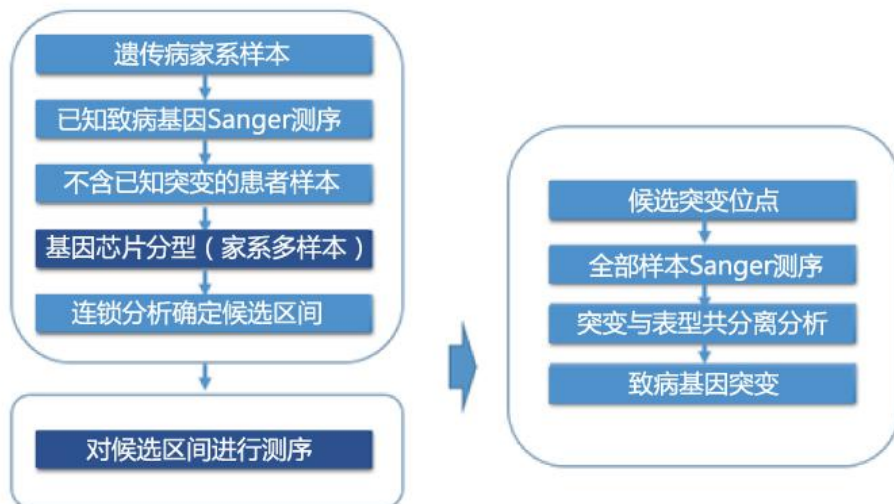
03/ 生物信息分析流程



04/ SNP基因芯片解决方案

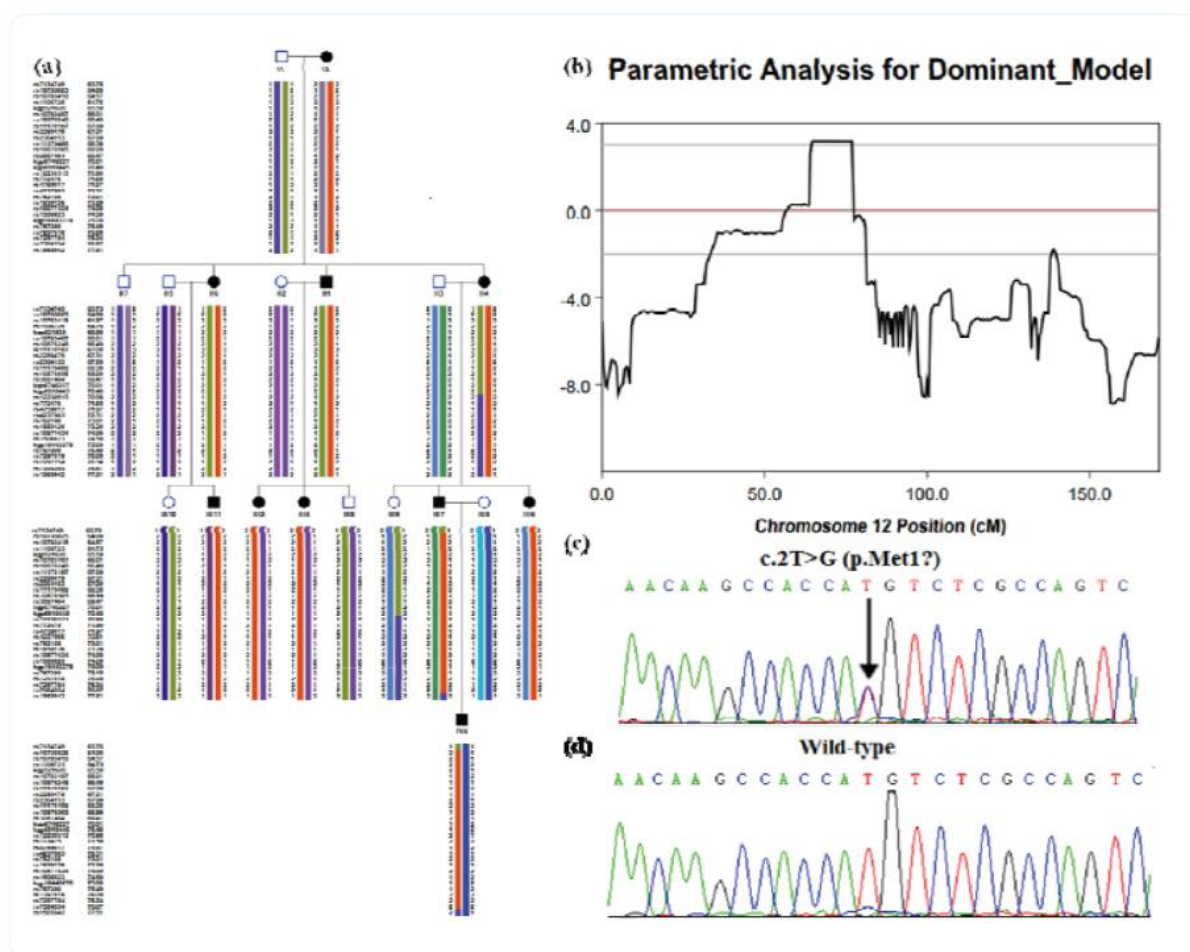
方案一 遗传疾病连锁分析定位

在遗传病家系研究中，连锁分析定位是一种稳定可靠的方法。使用基因芯片对家系样本进行分型，并使用连锁分析将遗传病相关基因定位于一段基因区域中，随后再进行测序寻找这段基因区域内的遗传变异，可将候选范围缩小至数个位点。连锁分析通常用于单基因遗传病研究，或者用于定位复杂疾病中致病性高的遗传变异。



研究案例 连锁分析和外显子测序在Dowling-Degos病例中确定致病基因

Dowling-Degos病是一种色素性疾病，为常染色体显性遗传，特征为身体屈侧有网状色素沉着、显著的粉刺样皮疹和凹陷性瘢痕。本研究使用了患有Dowling-Degos病的家系作为研究对象，患者样本数量为19个。作者使用了Sanger测序排除了包含已知致病基因ABCB6、POFUT1和POGLUT1突变的样本，使用了上海伯豪提供的Illumina Infinium Human OminiZhongHua-8基因芯片进行基因分型。连锁分析将致病基因定位至12q13.12-12q14.1区域内，LOD值为3.19，定位精度为13.76 cM。随后，对其中一例患者，研究者进行了外显子组测序，平台为Agilent SureSelect，测序深度为100X。在定位区域内发现了KRT5基因起始密码子的突变c.2T>G (p.Met1?)和NEUROD4基因的一个错义突变c.376G>A (p. Ile126Val)。经过使用Sanger测序进行突变与疾病的共分离分析，后者被排除，而前者被证明与疾病相关。



Dowling-Degos病致病基因KRT5的定位。(a)单倍型分析；(b)连锁分析，候选区域LOD值为3.19；(c) Sanger测序验证KRT5基因变异

原文出处：Li M, Wang J, Zhang J, et al. Genome-wide linkage and exome sequencing analyses identify an initiation codon mutation of KRT5, in a unique Chinese family with generalized Dowling-Degos disease. *Brit J Dermatol*, 2015, 174(3):663-666.

方案二 遗传图谱构建和QTL定位

遗传连锁图谱 (Genetic linkage map) 是以基因重组交换值为基础构建的遗传图谱, 可表示分子遗传标记之间的相对位置和距离。它除了可用于比较进化研究和基因组拼装外, 最常见的应用则为数量性状定位。数量性状 (Quantitative characters) 是指在一个群体内的各个体间表现为连续变异的性状, 在一个群体内各个个体的差异一般呈连续的正态分布, 难以在个体间明确地分组。目前已知, 大多数控制性状 (如作物产量、生育期、籽粒重、乳牛泌乳量、羊毛长度等) 的位点均为数量性状, 称为数量性状位点 (quantitative trait locus, QTL)。QTL定位以遗传图谱的构建为基础, 将QTL定位在遗传图谱的一个区间内。经过进一步的精细定位和图位克隆, 即可获得目标基因的序列。

实验材料

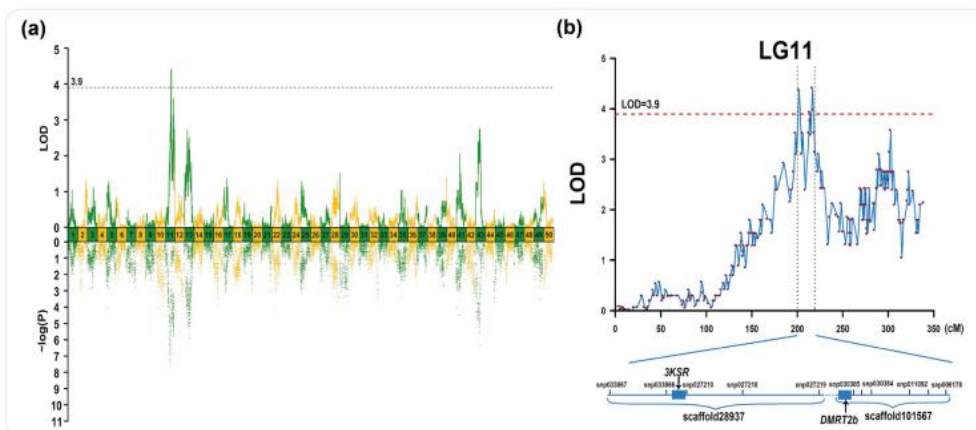
作图群体 (F1, F2, RILs, BC等), 个体数 > 200

实验方案



研究案例 案例二 鲤鱼高密度遗传图谱构建和性别与生长相关性状的QTL定位

鲤鱼是重要的水产物种, 其全基因组已于14年被测序完成, 并开发出了高密度SNP芯片。本研究研究材料为黄河鲤全同胞F1家系的119个个体和2个亲本, 使用了Affymetrix Axiom Carp 250K SNP芯片进行基因分型, 得到了平均标记密度为0.38cM的高密度连锁图谱。利用这张图谱, 作者对这个家系的生长相关性状 (体重、体长、胴体重) 和性别二态性进行了QTL定位, 鉴定出了22个和7个性状相关的QTL, 平均 (中值) 定位精度在1cM以内。研究还进行了基于家系的关联分析作为连锁分析的参考。根据定位结果, 研究鉴定出了生长相关调控因子KISS2, IGF1, SMTLB, NPFFR1和CPE, 以及性别二态性相关基因3KSR和DMRT2b。本研究显示黄河鲤高密度遗传连锁图谱为QTL精细定位和原位克隆提供了有力的帮助。



黄河鲤的QTL定位和关联分析。

a. 横坐标为位点在50条染色体的位置, 上图连锁分析得到的LOD值, 下图为关联分析得到的 $-\log(p)$ 值;
b. 2个QTL区域分别包含3KSR和DMRT2B基因

原文出处: Peng W, Xu J, Zhang Y, et al. An ultra-high density linkage map and QTL mapping for sex and growth-related traits of common carp (*Cyprinus carpio*) Sci Rep, 2016, 6.

方案三 全基因组关联分析

全基因组关联分析 (genome-wide association studies, GWAS) 是一种在全基因组水平上将大量样本的表型和基因型进行对照分析或相关性分析, 从而对复杂性状进行基因定位的方法。目前, GWAS已经成为动植物数量性状位点 (quantitative trait locus, QTL) 精细定位的重要手段。随着越来越多农林相关物种高密度芯片的开发, GWAS将更广泛地应用于农林领域。

实验材料

无关个体 (质量性状): 分为case/control, 最少 >200个/组, 推荐 > 500个/组

无关个体 (数量性状): 最少 >200个, 推荐 > 500个

家系个体: 最少 > 200个, 推荐 > 500个。需提供家系信息

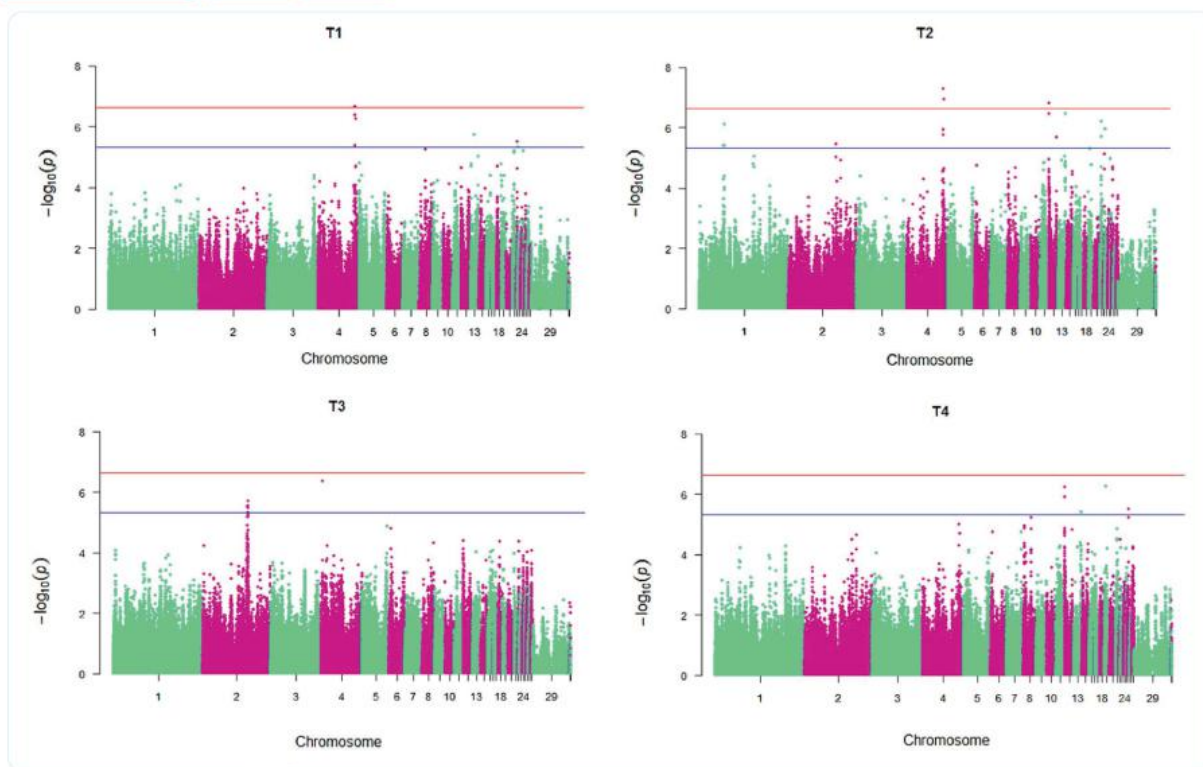
实验方案



研究案例 使用GWAS研究鸡攻击行为相关基因

攻击行为是很多物种共有的进化属性, 它可以帮助雄性物种快速建立生存空间或社会主导地位。本文使用GWAS方法来探究攻击行为背后的遗传因素。研究共使用了265只雄性家鸡, 在出生第60天时开始测量攻击性状, 共4个, 分别为T1: 在记录期间 (16天) 内打斗的次数; T2: 每天打斗的次数 (超过4次则被记录); T3: 打斗的天数; T4: 超过4次打斗的天数。基因分型工作由上海伯豪完成, 使用了Affymetrix Axiom平台的高密度芯片, 型号为600K Affymetrix Axiom HD chicken genotyping array, 共生成了599,898个SNP位点。经过质控后, 保留468,020个SNP用于GWAS分析。结果共得到33个显著位点, 涉及26个基因。随后, 作者对26个相关基因进行代谢通路分析, 根据基因互作网络进一步得到9个基因, 其中SORCS2基因与多个基因互作, 可能具有重要功能。最后, 研究在鸡成纤维细胞系DF-1中敲降了SORCS2基因的表达量, 观察到上下游基因表达量也随之降低。此结果显示SORCS2基因可能会影响多巴胺通路的表达, 从而影响到鸡的攻击行为程度。





T1-T4四个攻击行为性状的Manhattan图，蓝和红色线分别表示 $P=4.6E-6$ 和 $P=2.3E-7$

原文出处：Li ZH, Zheng M, Abdalla A, et al. Genome-wide association study of aggressive behaviour in chicken. Sci Rep, 2016.

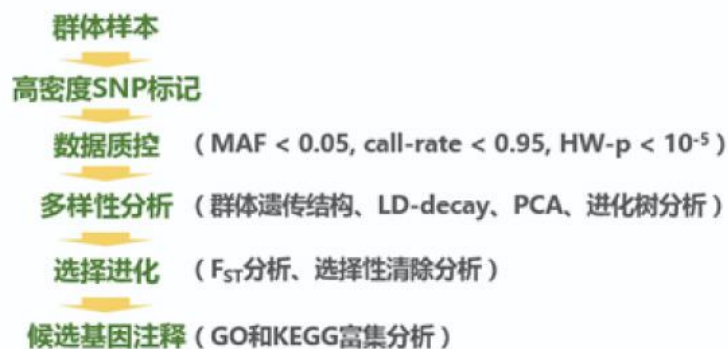
方案四 群体进化分析

群体进化是基于群体遗传学方法研究不同群体之间的结构、多样性和演化规律的一门学科。随着高通量方法的发展，群体遗传学已从使用单一或少数分子标记，转而使用基于全基因组的分子标记。群体进化分析主要讨论以下问题：（1）群体间的进化关系，群体结构和遗传多样性；（2）群体间的正选择作用，解释品系的驯化机制或种群的环境适应性进化；（3）群体的历史动态变化，例如有效种群大小，基因流，群体分化时间等。

实验材料

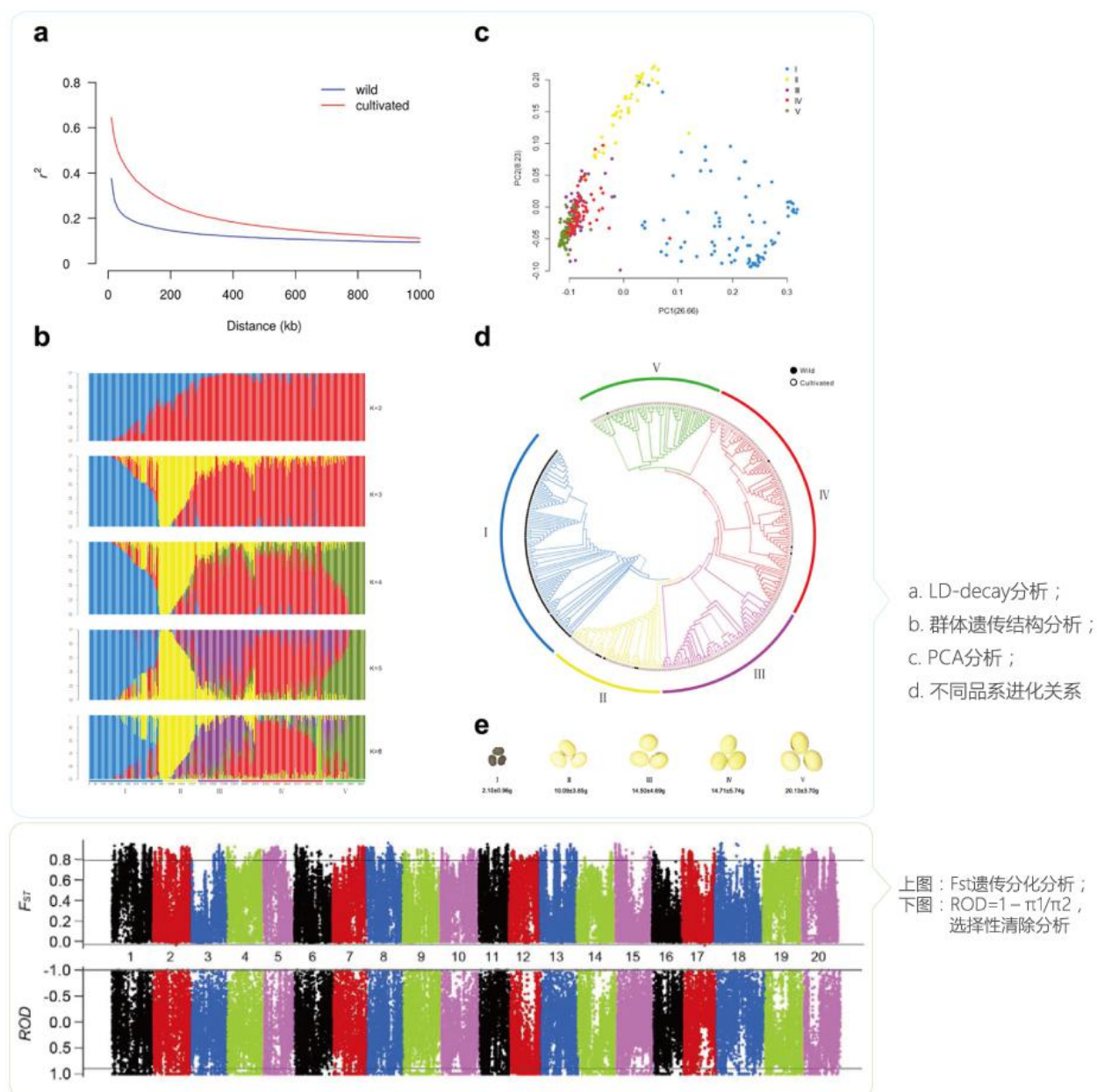
样本数量：至少2组，每组个体数 > 30个

实验方案



研究案例 使用高密度SNP芯片探究大豆的驯化历史

研究使用根据32个已完成重测序的大豆品种自行设计的高密度大豆芯片“NJAU 355 K SoySNP array”（基于Affymetrix Axiom平台）对367个大豆样本（包括105个野生和262个栽培品种）进行基因分型。首先，文章对367个样本进行了遗传多样性和遗传结构的分析，结果表明了大豆很可能起源于中国中部和北部。通过选择性清除（Selective sweeps）和遗传分化（ F_{st} ）分析，发现种子重量受到了驯化的正向选择作用。为了进一步研究种子重量相关位点，对367个样本进行了种子百粒重的统计和全基因组关联分析，发现20号染色体上的一段强连锁不平衡区域显著与种子重相关。本研究使用高密度SNP芯片对不同品系的大豆进行分型，首先通过遗传多样性分析和群体进化分析找到感兴趣的驯化性状，接着成功通过GWAS分析找到了与该性状相关的基因区域。



原文出处：Wang J, Chu S, Zhang H, et al. Development and application of a novel genome-wide SNP array reveals domestication history in soybean.. Sci Rep, 2016, 6(1):856-859.

基因组测序

由于测序技术的不断更新和改进，测序分型的成本越来越低，目前也已成为常用基因分型手段之一。相对于芯片，测序分型可专注于特定的基因区域进行捕获测序，并极大地降低单位样本的成本；测序可不局限于预设位点的偏好性，并能够发现新突变；除可以检测SNP以外，还能够检测插入缺失（InDel）、拷贝数变异（CNV）和结构变异（SV）。

01 测序类型

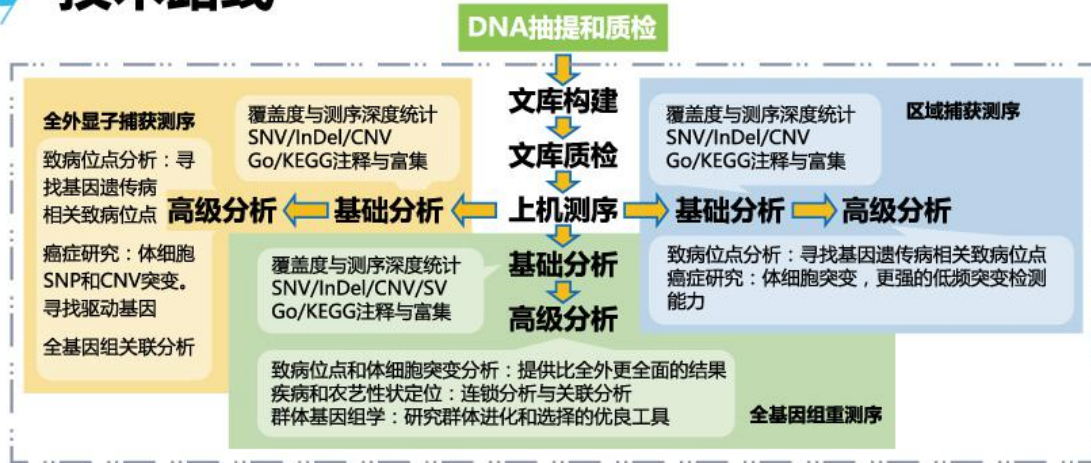
测序方法	捕获方法	测序平台	检测内容
区域捕获测序	SureSelect	Illumina Hiseq	SNV/InDel
	Ampliseq	Ion Torrent PGM	SNV/InDel
	Haloplex	Illumina Hiseq	SNV/InDel
全外显子捕获测序	SureSelect	Illumina Hiseq	SNV/InDel/CNV
全基因组重测序	---	Illumina Hiseq	SNV/InDel/CNV/SV

02 样本准备

1. 样品纯度：OD_{260/280}值应在1.7~2.0之间，A₂₆₀/A₂₃₀ > 1.5；RNA应该去除干净；不含有其它个体或其它物种的DNA污染；
2. 样品浓度：浓度不低于55ng/μl；
3. 样品总量：每个样品总量不少于2μg；
4. 样品溶剂：溶解在TE或者水中；
5. 样品运输：DNA低温运输（-20℃）；在运输过程中请用parafilm将管口密封好，以防出现污染。



03 技术路线



04 应用领域

研究案例	区域捕获测序	全外显子捕获测序	全基因组重测序
医学研究			
拷贝数变异		√	√
染色体结构变异			√
致病突变位点分析	√	√	√
基因组关联分析	√	√	√
体细胞突变分析	√	√	√
动植物研究			
遗传图谱构建	√	√	√
QTL定位			√
BSA定位			√
基因组关联分析	√	√	√
群体进化		√	√

更多基因组测序应用信息详见伯豪DNA水平研究解决方案

MassARRAY质谱基因分型

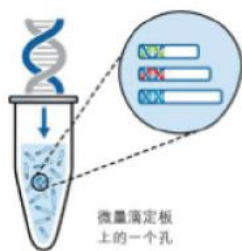
MassARRAY SNP基因分型技术是基于飞行质谱的分型技术，作为全球唯一的核酸质谱仪，其优势是可以进行多重SNP分型，即一个反应可同时分型多个SNP位点。该技术在分析数百上千个样品的数十上百个SNP时具有价格优势。该技术首先通过PCR将跨越SNP位点的DNA序列扩增出来，然后应用单一延伸引物(extension primer)扩增PCR产物。设计延伸引物时，要求引物的3'末端距离SNP位点只有一个碱基。进行延伸反应时使用双脱氧核苷三磷酸(ddNTP)，以确保延伸引物只延长一个碱基。延伸产物用飞行质谱(TOF, time of flight)进行分析。虽然一个碱基的分子量差别很小，但应用特别设计的飞行质谱足以根据这微小差别进行分型。

01 技术特点

- **高性价比**：在所有的SNP分型方法中，价格最低。
- **高准确性**：采用尖端的飞行质谱的分型技术，比RT-PCR技术更精准。
- **高通量**：一张芯片可对384个样本进行多重检测，每个体系最多实现36重反应。
- **广泛性**：可测试各种类型的样本，包括FFPE、血浆和全基因组扩增的DNA。
- **高效性**：全自动分析数据，最快一天内可以完成基因分型报告。

02 技术流程

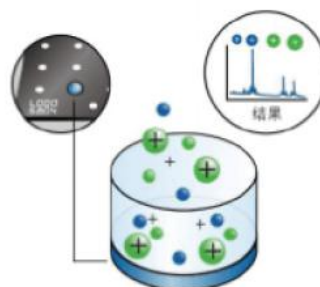
样本处理程序



端点 PCR
一次反应中可放大和扩展多达40条靶特异性DNA片段。



转移被分析物
将少量样本转移到 SpectroCHIP® 阵列的检测板上。



检测和分析
单一 SpectroCHIP 阵列可进行多项测试。每个样本可测试数百种突变。

* 如有必要，可为超过40个目标使用多项反应。

03 应用领域

- SNP/INDEL基因型分析和FUSION融合基因检测：易感基因、肿瘤突变
- CNV基因拷贝数变异分析：肿瘤、遗传、多倍体植物
- 超高灵敏度精确分析：液体活检循环游离核酸、产前和肿瘤及耐药
- RNA基因表达和DNA质量精确定量分析：肿瘤、样本质控
- DNA甲基化定位、定量分析：肿瘤、胎儿DNA在母体血中比例
- 病原体高灵敏度检测和分子分型：结核、乙肝、人乳头状瘤
- 在农业领域应用十分广泛，包括动植物基因型分析、性状分析、拷贝数变异、甲基化分析以及基因表达定量分析等

04 样本准备

1. 组织样品 (需提供 $\geq 100\text{mg}$ 组织)
2. 体外培养细胞 (需提供 $\geq 10^6$ 个细胞)
3. 基因组DNA (需提供 $\geq 5\mu\text{g}$ 基因组DNA)
4. 全血 (需提供 $\geq 2\text{mL}$ 全血)

参考文献：

- [1] Lee et al., A Panel of Genetic Polymorphism for the Prediction of Prognosis in Patients with Early Stage Non-Small Cell Lung Cancer after Surgical Resection. PLoS One, 2015, 10(10): e0140216.
- [2] Sleegers et al., A 22-single nucleotide polymorphism Alzheimer's disease risk score correlates with family history, onset age, and cerebrospinal fluid Ab42. Alzheimers Dementia, 2015, 11:1452- 1460.
- [3] Lin et al., A genome-wide association study in Han Chinese identifies new susceptibility loci for ankylosing spondylitis. Nat Genet, 2011,44(1):73-7.
- [4] Thomas et al., High-throughput oncogene mutation profiling in human cancer. Nature Genetics, 2007, 39(3):347-351.

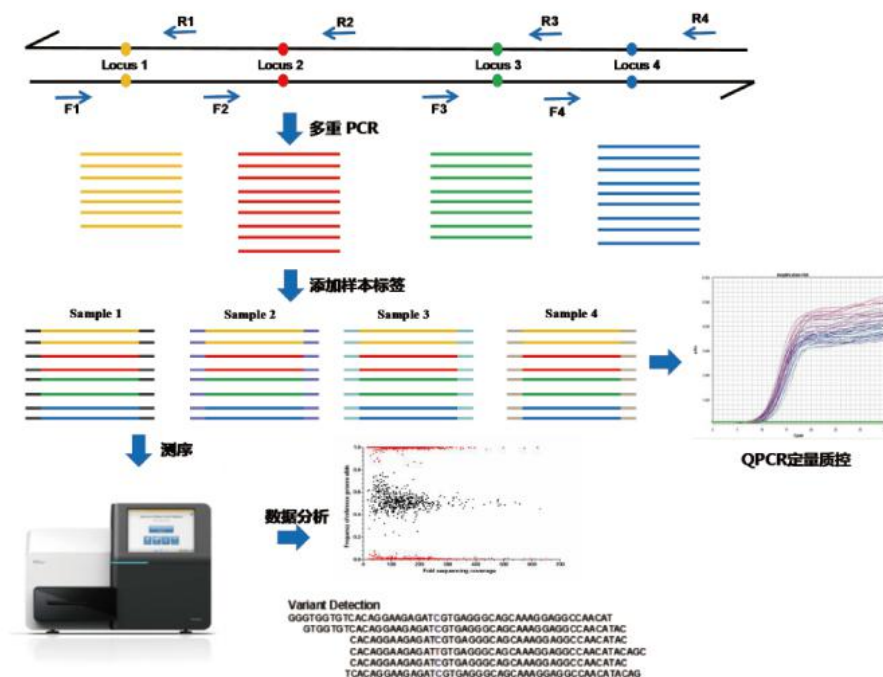
基于多重PCR的SNP基因分型

结合多重PCR技术和高通量测序的SNP基因分型技术,通过对需要检测的位点设计特异性引物,在单管内进行多重PCR扩增,添加不同的Barcode引物区分样本后混样,在主流高通量测序平台上对扩增子进行高通量测序。测序结果使用生物信息学方法,区分不同的样本,最终获得每个位点的SNP信息。高通量测序能一次对几百万条DNA分子进行序列测定,相比其他的SNP检测技术,基于高通量测序的SNP分型具有更准确、更灵敏的特点。

01 技术特点

- 利用超高重PCR捕获技术,技术先进,结果可靠
- 通量高,SNP位点30-500个之间,数百数千样本推荐使用
- 平均测序深度100X,每个SNP位点测序深度至少15X
- 适用性广,适用于任何多态性位点
- 对SNP位点以及周围序列进行测序,更灵敏,更准确
- 检出率>95%
- 准确率>98%

02 技术流程



03/ 样本准备

- **样品纯度**: OD260/280值应在1.7~2.0 之间, A260/A230>1.5;
- **样品浓度**: 浓度不低于40ng/μl;
- **样品总量**: 每个样品总量不少于100ng;
- **血液样本**: EDTA抗凝, 2ml, -20°C冰箱保存; 新鲜冰冻组织: 液氮冷却、-80°C冰箱保存;
- **样品运输**: DNA低温运输 (-20°C); 在运输过程中请用parafilm将管口密封好, 以防出现污染。

参考文献:

[1] Li J, Huang S, Dai H R, et al. A promoter polymorphism rs2075824 within IMPA2 gene affecting the transcription activity: possible relationship with schizophrenia.[J]. Journal of Cellular & Molecular Medicine, 2016.

[2] Chen K, Zhou Y X, Li K, et al. A novel three-round multiplex PCR for SNP genotyping with next generation sequencing[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2016, 408(16):1-7.

[3] Chen Z J, Zhao H, He L, et al. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for polycystic ovary syndrome on chromosome 2p16.3, 2p21 and 9q33.3.[J]. Nature Genetics, 2011, 43(1):55-59.



服务科技创新, 护航人类健康!

咨询热线: 800-820-5086/400-880-5086

电话: 021-58955370
网址: www.shbio.com

邮箱: market@shbio.com
地址: 上海张江高科技园李冰路151号