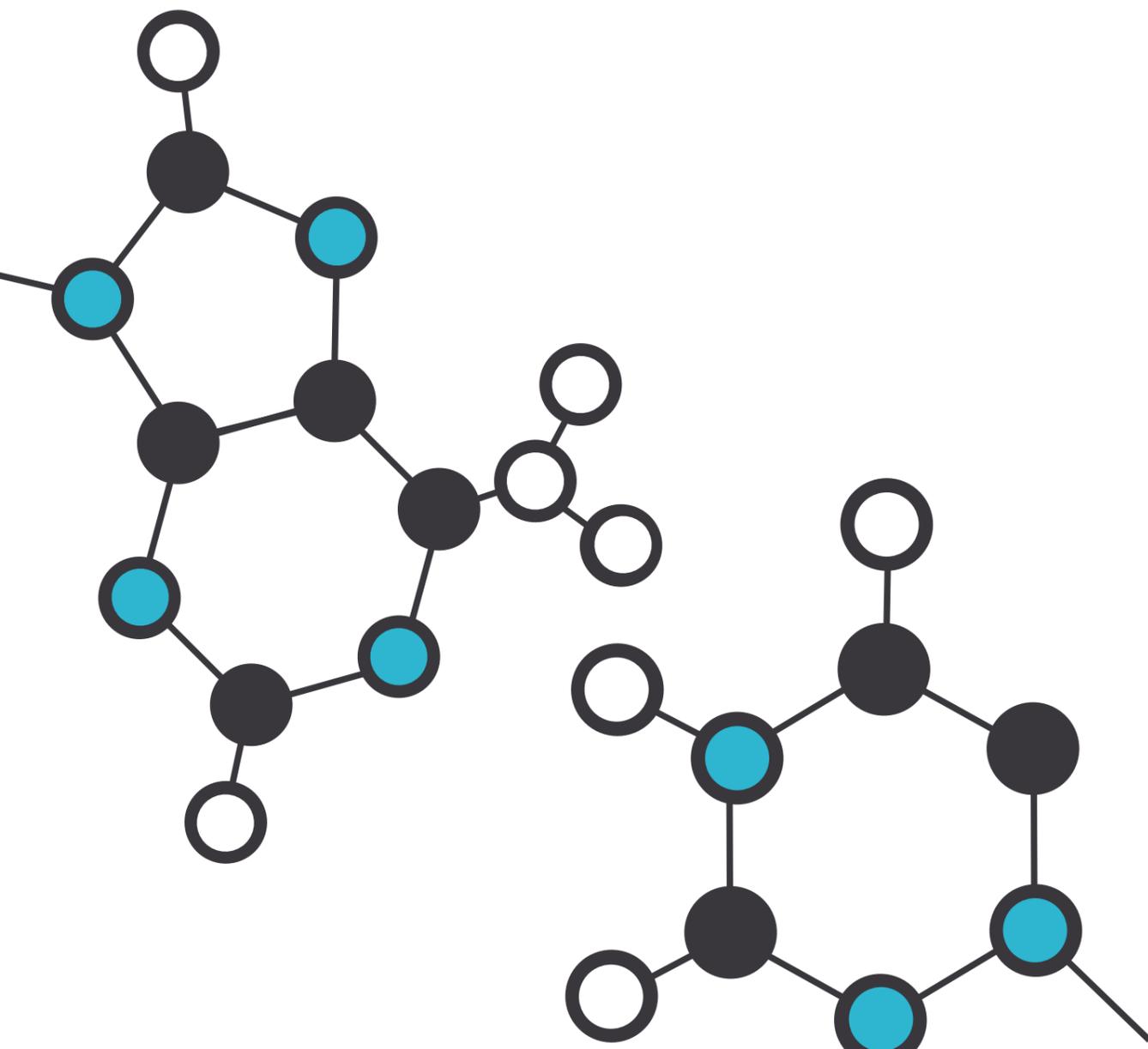


多方位基因體分析服務



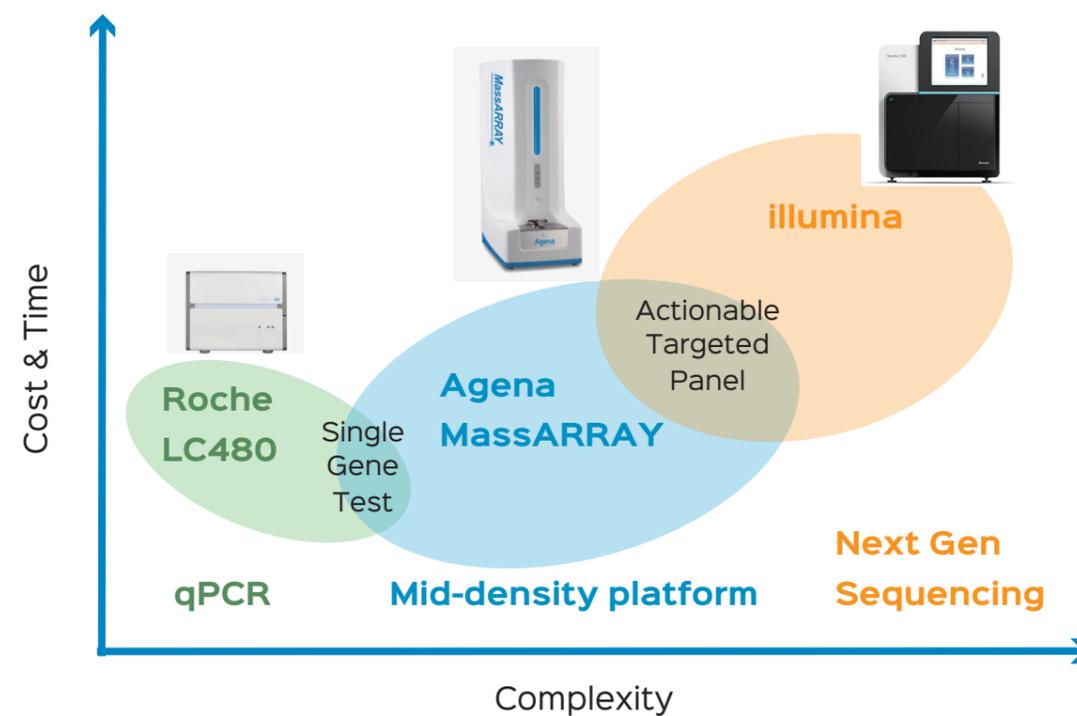
豐技生物科技股份有限公司成立於2005年，提供臨床檢驗、分子基因醫學研究相關技術的推廣與支援。我們的使命在提供專業而全面的基因分析服務，以提供您詳盡的實驗設計諮詢與高品質的實驗分析水準。

我們長年提供Agena MassARRAY平台的相關技術支援，於2012年與台北病理中心合作建立分析實驗室提供全面性的分析服務。並於2013年通過Agena原廠分析能力試驗，取得Agena Certificated Service Provider認證。在轉譯醫學研究日新月異的時代，我們建置NGS、MassARRAY、qPCR多種技術平台，可以針對您不同的分析需求提供最合適的解決方案。此外我們也致力於開發各種臨床與各研究領域所需的分析位點套組，期望能夠提供您更多樣且可靠的分析服務選擇。



分析服務總覽

基因體學相關研究與應用您可能需要面對各種多元型態的基因標記，我們提供多種技術平台，可以針對您不同的分析需求提供最合適的解決方案。



SNP Genotyping:

1-5 SNPs
5-200 SNPs
>200 SNPs

Roche qPCR
Agena MassARRAY
Illumina NGS

Oncology:

Oncogene mutation
Target Locus mutation

Agena MassARRAY
Illumina NGS

DNA Methylation:

1-100 Target locus
Genome Wide

Agena MassARRAY
Illumina NGS

Microbiology:

MLST, Metagenomics

Illumina NGS

Target Sequencing:

Target Locus SNP, CNV

Illumina NGS

Transcriptome:

Target Gene expression
RNA Sequencing

Roche qPCR
Illumina NGS

目次

2 MassARRAY核酸質譜分析平台

3 SNP Genotyping

藥物代謝基因分析-ADME Panel

血型基因型分析-HemoID BGG Panel

G6PD突變熱點分析

海洋性貧血突變熱點分析

化療藥物反應基因型分析

遺傳性聽力喪失基因型分析

樣本品管標記分析 Exome ID Panel

客製化設計分析

5 Somatic Mutation

肺癌突變分析工具組合

大腸癌突變分析-All RAS Panel

黑色素瘤突變分析-BRAF Panel

客製化設計分析

6 Methylation

8 illumina NGS 分析平台

9 Targeting Sequencing

遺傳疾病突變分析

粒線體突變分析

癌症基因突變分析

11 Metagenomics

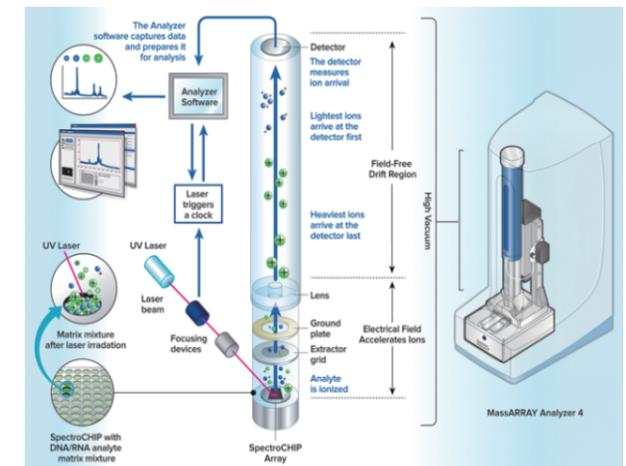
MassARRAY

核酸質譜分析平台

由 Agena Bioscience (前身為Sequenom Genetic analysis) 開發的MassARRAY將MALDI-TOF技術應用於核酸分析的技術平台。此平台結合轉譯醫學領域所需的準確性與高效率兩大需求，提供包含SNP分析、DNA甲基化分析基因表達定量、與序列比對等多種分析應用功能，是高檢體量的研究計畫的最佳選擇。

分析過程中DNA樣本在SpectroCHIP形成結晶，經高能雷射激發結晶，使DNA分子游離化進入帶有電場的真空時間飛行管中，再由偵測器分析不同分子量之分析物的飛行時間，以推算出分析物分子量圖譜。

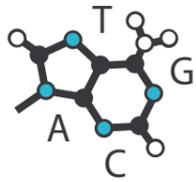
在核酸分析上能夠分析1000Da 到10000Da，可分析3個核苷酸到30個核苷酸的分子，配合多種不同反應設計能夠應用於多種應用分析。



質譜分析技術的特色與優點

- 提供優異的靈敏度與準確度
- 提供多叢性分析可能性
- 不需任何特殊標定，降低訂製探針成本
- 高彈性且高效率的實驗設計可能性
- 優異的分析成本效益與樣本容載率





SNP Genotyping

基因型鑑定分析

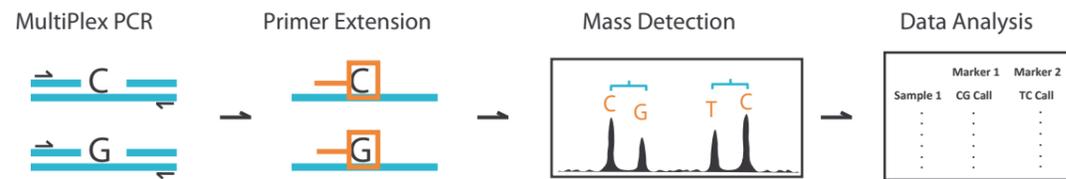
客制化基因型鑑定分析 · ADME PGx Panel 藥物代謝基因型分析 · Hemo ID BGG Panel 血型基因型分析
Sample ID Panel 檢體標記分析 · Exome ID Panel 檢體外顯子標記分析

iPLEX Gold 技術原理

我們提供SNP基因型分析服務使用MassARRAY iPLEX 技術，可彈性的提供全客製化SNP位點分析或者是挑選現有各不同應用的基因位點組合進行分析。

iPLEX Gold reaction為Agena 於MassARRAY System所開發的SNP分析反應。此反應包含MultiPlex PCR amplification、Single nucleotide extension、Mass detection三個步驟。PCR amplification 由一對專一性primer將包含Target SNP site約一百個鹼基大小的片段進行增幅反應，再由一條黏合於Target SNP site正前方的extension primer進行單一鹼基延伸反應，由於單一鹼基可合成出四種鹼基A、T、C、G，再利用質譜分析產物分子量，以此方法得知Target SNP site的定型結果。此方法可用於分析含SNP、CNV、InDel等各種不同型式之序列變異性。

在單一反應最多可設計四十組不同SNP位點的Multiplex PCR反應，由於利用質譜儀直接偵測primer質量，因此只需使用一般無特殊標定之primer，可提供您更具經濟效益的多位點SNP分析方法。也因此具有的實驗彈性，不需花費時間等待原廠訂製探針或偵測primer，可以立即訂購一般primer進行分析。透過Sequenom專用設計軟體 Assay Design Suite，我們可以快速的完成您所需要的SNP primer設計，縮短等待時間，提供您轉譯醫學研究 SNP驗證高效率且高品質的分析工具。

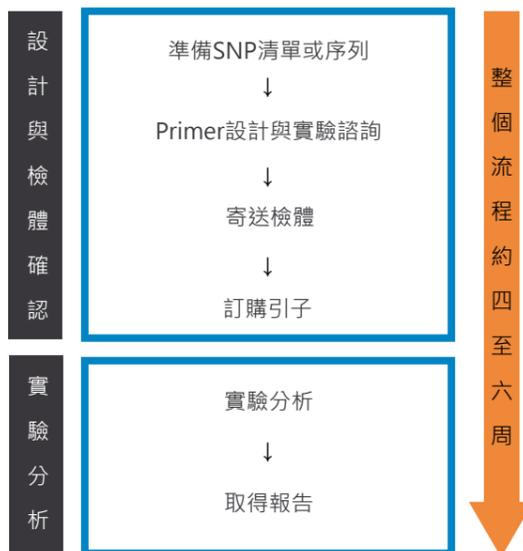


分析服務流程

- 客制化需準備需要目標位點之 rs no. 或目標序列
- 挑選預先設計分析Panel
- 客製化反應引子設計服務與實驗諮詢
- 準備Genomic DNA樣本
- iPLEX gold反應步驟與上機分析步驟
取得數據分析結果

分析服務方式

檢體形式： 96 盤裝 Genomic DNA
檢體品質要求： OD 260/280 ratio 1.7~2.0
適用檢體： Blood/FFPE gDNA、WGA
檢體量需求： 10ng/Reaction
SNP 資訊需求： rs no. 或包含SNP之序列
(其他資訊請參閱基因型鑑定分析服務說明)



客制化基因型鑑定分析

- 全客制設計分析
- 適合GWAS Validation、特定基因SNP分析、遺傳疾病位點分析各種研究型

我們提供全客制設計分析服務，配合您各種分析SNP的組合的需求，設計專屬您的分析MultiPlex PCR引子組合。

藥物代謝基因型分析-ADME PGx Panel

- 精選99% Pharma ADME core list 重要基因型
- 可單次同時分析含192個位於36個藥物代謝相關基因上突變位點

iPLEX ADME PGx Panel 是使用iPLEX基因型分析方法所開發的藥物代謝基因型分析套組，套組中包含36個藥物代謝相關基因上192突變型分析，包含Pharma ADME core list中99%的重要基因型，同時滿足重點代謝基因型分析與高檢體量的需求，是藥物代謝基因體分析領域嶄新的利器。

血型基因型分析-Hemo ID BGG Panel

- 可分析16種RBC 血型系統、HPA與HNA分型
- 基因型分析型態包含SNP、CNV變異型

RhD/C/E、Kidd、Kell、Duffy、MNS、Vw、Hut、IVS5/P2、Lu、Au、Di、Wr、Yt、Co、Kn、McC、Sla/Vil、Do、Hy、Jo、LW、Sc、Cr、Tc、In、Vel、HPA、HNA。

G6PD突變熱點基因型分析

- 可分析台灣地域性常見之G6PD基因熱門突變位點

海洋性貧血突變熱點基因型分析

- 可分析台灣地域性常見之α型與β型海洋性貧血基因熱門點突變與片段缺失

化療藥物反應基因型分析

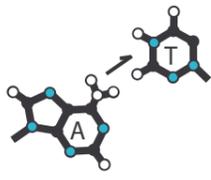
- 分析fluorouracil and oxaliplatin化療藥物治療反應關聯性之位點

遺傳性聽力喪失基因型分析

- 分析遺傳性聽力喪失關聯型基因位點

樣本品管標記分析 Exome ID Panel

- 透過 42 個高變異度 Exome SNP Marker與 3 個性別 Marker進行檢體標記
- 同時以PCR方式完成 100-500bp Amplicon進行 DNA樣本定量與品質分析得知樣本碎裂程度



Somatic Mutation Analysis

體基因突變分析

客制化體基因突變分析 · OncoCarta Panel 癌症相關基因突變分析 · OncoFocus Panel 標靶治療基因突變分析
大腸癌相關突變分析 · UltraSEEK Panel 高敏感度突變分析

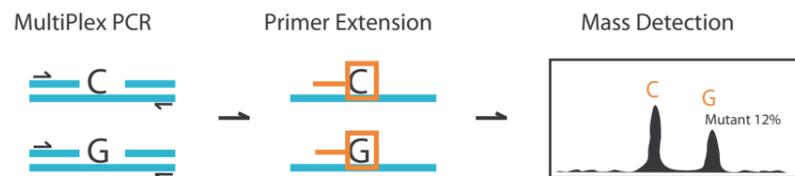
我們使用MassARRAY進行體基因突變分析，有標準型的iPLEX突變分析方法可提供突變分析敏感度5-10%比例的客制化位點分析或者是預先設計好的位點組合，另外有高敏感度的SABER突變分析方法可以提供分析敏感度達0.1%比例的客制化位點分析或者是預先設計好的位點組合。

iPLEX 技術原理

iPLEX reaction包含MultiPlex PCR amplification、Single nucleotide extension、Mass detection三個步驟。

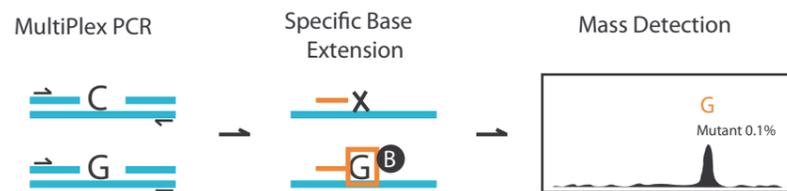
PCR amplification 由一對專一性primer將包含Target SNP site約一百個鹼基大小的片段進行增幅反應，再由一條黏合於Target SNP site正前方的extension primer進行單一鹼基延伸反應，由於單一鹼基可合成出四種鹼基A、T、C、G，再利用質譜分析產物分子量，以此方法得知Target SNP site的定型結果。此方法可用於分析含SNP、CNV、InDel等各種不同型式之序列變異性。

在單一反應最多可設計十組不同SNP位點的Multiplex PCR反應，由於利用質譜儀直接偵測primer質量，因此只需使用一般無特殊標定之primer，可提供您更具經濟效益的多位點SNP分析方法。體基因突變敏感度可達5-10%，比現行定序方法敏感度高，也可透過Multiplex PCR的優點，可在一個反應中同時分析多個基因上多個位點，同時兼顧高敏感度與多位點分析兩種癌症分析上的需求。



SABER 技術原理

SABER reaction是針對高敏感度突變分析需求所開發的反應，PCR amplification 由一對專一性primer將包含Target SNP site約一百個鹼基大小的片段進行增幅反應，再由一條黏合於Target SNP site正前方的extension primer進行單一鹼基延伸反應，反應中只加入突變之使用Biotin標記之鹼基，使突變型才有可能發生專一性延伸，再進行突變產物純化。在質譜上可測得敏感度達0.1%之突變。結合超高敏感度與多位點分析的特色讓您能在研究上使用如Plasma Circulating DNA樣本，滿足檢體DNA量稀少但又極需高敏感度分析的研究需求。



客制化基因型鑑定分析

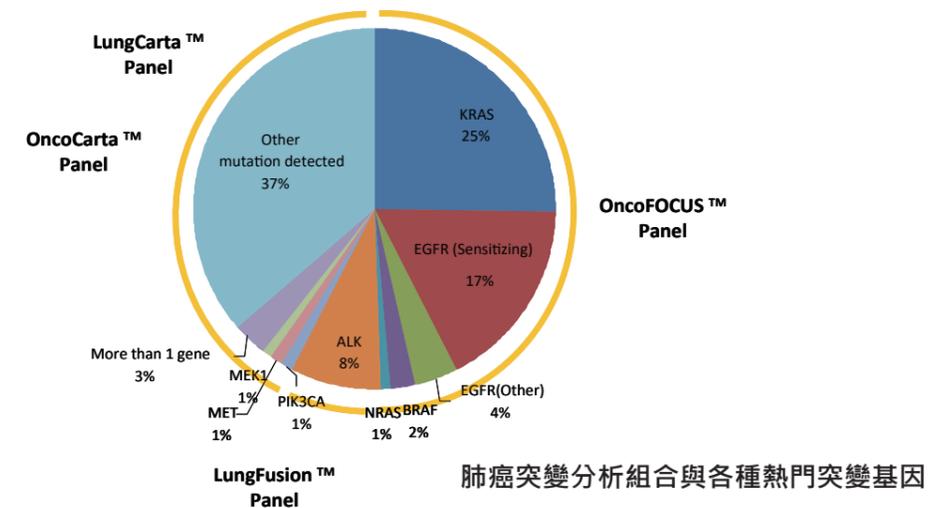
- 全客制設計分析
- 特定癌症、特定標靶藥物標記、特定訊息傳遞途徑跨越多組基因之分析各種研究類型

我們提供全客制設計分析服務，配合您各種分析突變的組合的需求，設計專屬您的分析MultiPlex PCR引子組合。

肺癌突變分析工具組合

OncoCarta Panel 癌症相關基因突變分析 · OncoFocus Panel 標靶治療基因突變分析
LungFusion ALK RET ROS1基因轉位分析 · UltraSEEK Panel 高敏感度突變分析
EGFR SABER Panel 高感度突變分析

我們提供多種肺癌突變分析組合，配合您肺癌臨床研究各種階段與不同目的，可以單獨聚焦熱門突變基因EGFR、KRAS、ALK Translocation或者是選擇一次數十種基因上百個位點的廣泛性的突變篩選。



大腸癌突變分析 All RAS Panel

- 分析位點包含KRAS、NRAS exon 2、3、4；BRAF codon 600
- 包含最近大腸癌標靶藥物檢測指引所建議之All RAS檢測位點範圍

All RAS Panel包含最新標靶藥物用藥指引建議檢測之所有位點，以簡易分析流程一次完成超過60個位點檢測。

黑色素瘤突變分析 BRAF Panel

BRAF Panel包含黑色素瘤標靶藥物所需分析之BRAF V600E、V600K突變位點。



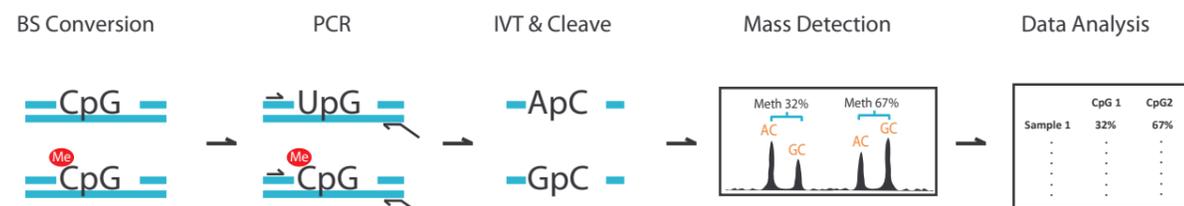
DNA Methylation Analysis DNA 甲基化分析

MassCLEAVE 技術原理

EpiTYPER reaction 為 Agena 於 MassARRAY System 所開發的 DNA methylation 分析反應。此反應包含 Bisulfite conversion、PCR、MassCLEAVE (T7-IVT and Base-specific RNA cleavage)、Mass detection 三個步驟。

經過 Bisulfite conversion 之後未甲基化之 C 將被轉換成 U，而甲基化將維持為 C 之型態。轉化完成之後經由 PCR 反應增幅，在 PCR 反應中所使用的 reverse primer 上連結上 T7 RNA polymerase promoter 序列。此時 T7 RNA polymerase 可以利用此序列進行 in vitro transcription 合成 RNA，RNA 產物再由 RNase A 進行 Base-specific cleavage。RNase A 能夠切割 RNA 序列中的 C 與 U 的位置，由於在進行 in vitro transcription 合成反應的過程中，將其中的 CTP 置換成為 dCTP，因此所合成出的 RNA 產物中 C 的位置將無法再由 RNase A 切割，因此 RNase A 將只會專一性在序列中 U 之位置切割。整個序列通常會被切割成數十個片段，片段中如果帶有 CpG site，會因為甲基化狀態出現出兩種序列 (GC 或 AC)，此兩種序列分別表示甲基化或者是未甲基化的 DNA。在質譜分析可以觀察到兩種序列為分子量大小相差 16Da 的訊號，訊號波峰面積比率即可推算出該 CpG site 甲基化比例。

在甲基化定量分析技術中 EpiTYPER reaction 兼具高效率與高解析度的特性，在一個反應中最長可以分析 600 base pair 的片段，可以定量分析至個別 CpG site 甲基化程度，定量分析線性範圍 10-90%，由於使用整個 PCR 產物完整進行反應，能夠提供比定序隨機挑選菌落方式有更好的定量精準度，並節省下可觀的定序花費與時間消耗。

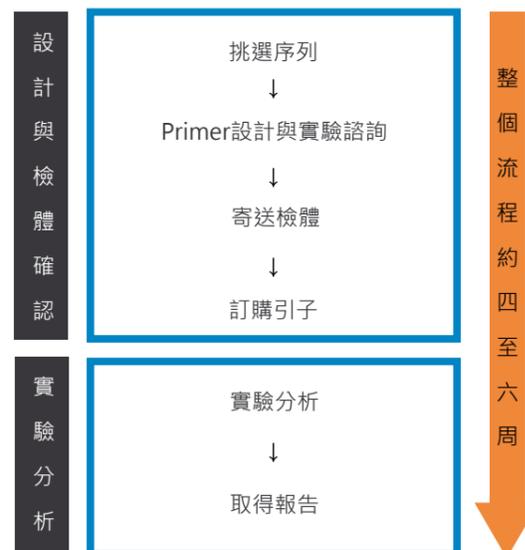


分析服務流程

- 客製化反應引子設計服務與實驗諮詢
- Bisulfite PCR 條件測試
- 準備 DNA 樣本
- 實驗分析與數據判讀後取得數據分析結果

分析服務需求

- 檢體形式： a. Genomic DNA
b. Bisulfite PCR Product
- 適用檢體： Blood/FFPE gDNA
- 檢體量需求： 2ug for Bisulfite PCR
10ul Bisulfite PCR Product
- 序列 資訊需求： 需提供所需分析目標序列
(其他資訊請參閱甲基化分析服務說明)

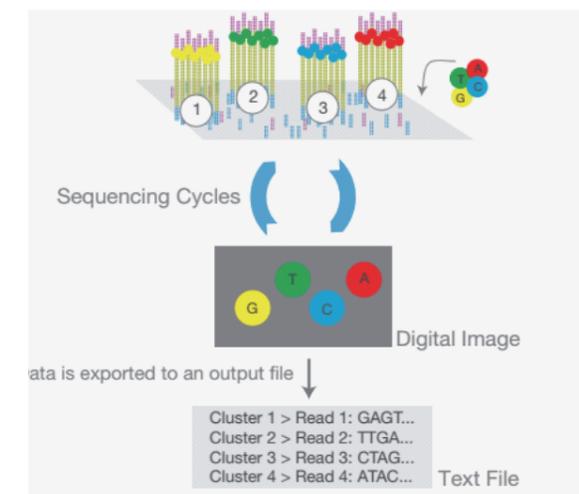


Illumina NGS

次世代定序分析平台

我們採用 Illumina 的 NGS 技術進行定序分析，是目前發展最為成熟且廣泛使用於各種高通量定序技術，提供高質量、低錯誤率的高量定序數據。

將想要分析序列片段化，接上定序標記序列完成序列文庫，即可轉入 NGS 定序儀，進行分子擴增，在定序反應中進行高通量同步定序，儀器使用光學讀取每個訊號點的鹼基定序訊號，即可取得超過數百萬筆定序數據，高通量定序技術可以搭配不同的文庫建構技術，應用各種基因體研究分析如 Targeting gene sequencing、RNA Sequencing、Metagenomics 等多元應用。



次世代定序分析技術的特色與優點

- 提供高通量定序數據
- 定序資訊可應用於未知序列變異分析
- 定序讀數可應用於 CNV 等變異分析
- 高彈性且高效率的多元應用目的

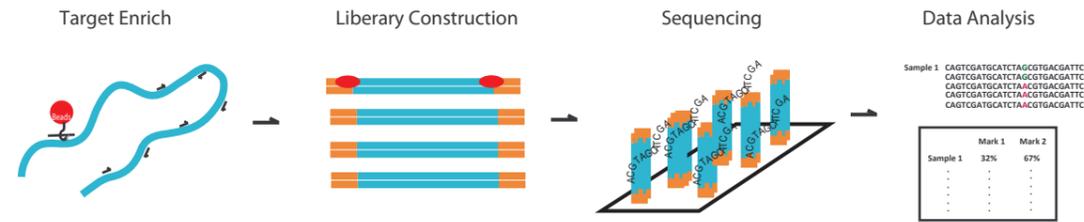




Targeting Sequencing 標的定序分析

Targeting Sequencing 技術原理

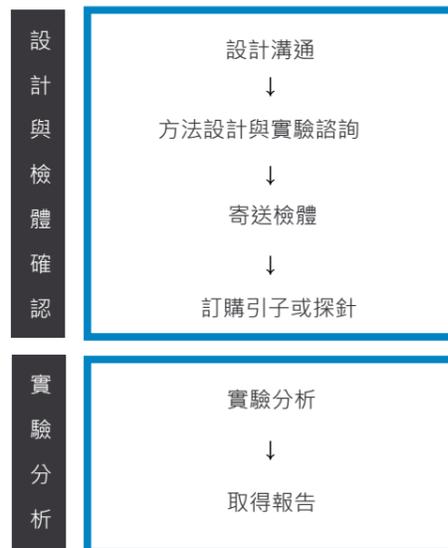
轉譯醫學研究與臨床檢測需針對特定目標基因進行定序分析，Targeting Sequencing技術先進行目標篩選再進行次世代定序，可以將定序資源集中在分析區域，提供高解析度與高質量的數據。我們依據目標基因與樣本的型態、長度，採用不同的目標篩選技術，如Probe Capture、Long range PCR、Short range PCR等方式進行目標篩選。再以Ligation或Transposase等方式接入定序引子進行建庫，再進行次世代定序，完成定序後再進行數據分析。定序數據可以用於發現未知突變或者是確認已知突變，也可以提供定序筆數用於分析突變比例；此外也可用於分析Copy Number Variation。目標篩選適合選擇數十到數百的區域範圍進行分析。我們採用多種不同目標篩選策略，可以針對不同基因數目與要分析的標記型態，提供最佳的定序策略。針對遺傳疾病的突變檢測的需求，可以挑選與疾病關聯的基因進行設計定序，以高效率的方式掃描突變位置。針對癌症相關分析可以，挑選關聯性癌症基因進行分析，以高定序深度分析微量突變，可針對不同類型研究目的進行全客製化的分析方法。



分析服務流程

- 設計服務與實驗諮詢
- 準備DNA樣本
- 實驗分析與數據判讀後取得數據分析結果

全客製化檢測流程
我們可提供從諮詢、設計、檢測、報告完整的分析流程。



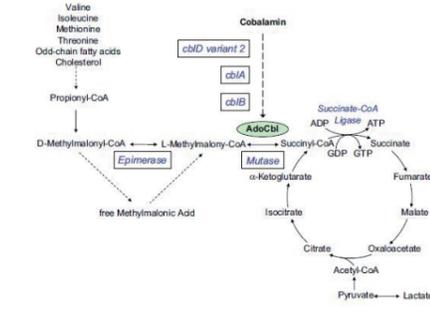
客制化標的定序分析

- 全客制設計分析
- 可應於遺傳疾病突變、癌症突變等分析各種研究型

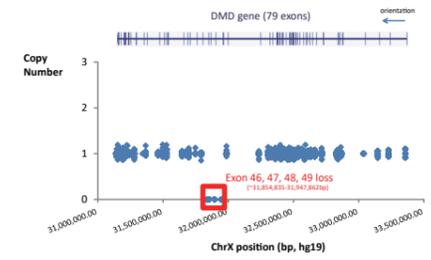
我們提供全客制設計分析服務，配合您感興趣的基因，設計專屬您的基因序列定序方法，提供高效率與高準確性的定序結果。

遺傳疾病分析

新生兒代謝疾病相關疾病(100個基因)、DMD基因缺失、心臟疾病相關基因、新生兒呼吸中止症成骨不全症



甲基丙二酸血症代謝途徑之基因分析



利用DMD基因序列定序分析檢測基因片段缺失

粒線體序列分析



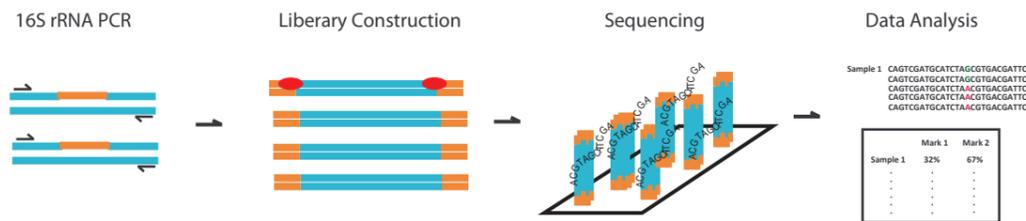
Metagenomics

總基因體分析

總基因體技術原理

總基因體分析以16S rRNA gene variable region定序方式，進行樣本的總菌相分析。先以16S rRNA 高度保留區序列引子進行總菌群的序列擴增，再將擴增產物接上定序引子，建置成序列文庫。將此為文庫進行次世代定序，再使用定序數據進行比對分析，使用RDP Classifier以GreenGenes資料庫進行分類，可以分類至species層級，定序讀數也可反應樣本中菌量比率。我們提供完整的分析服務流程，從取得DNA後到定序分析以及後續比對分析，您可取得一份完整的比對報告，讓您可以容易的進行總基因體學研究分析。

總基因體學技術可以應用在多種不同領域，如腸道菌相、皮膚菌相、環境土壤菌相等。可以分析傳統培養分析的盲點，以宏觀的角度分析菌相變化，也可以分析以往無法培養的菌群，隨著次世代定序技術的成熟，總基因體研究也發展的更加成熟，在目前文獻研究中，也有許多重大的發現，是目前微生物領域中新興的熱門研究題材。

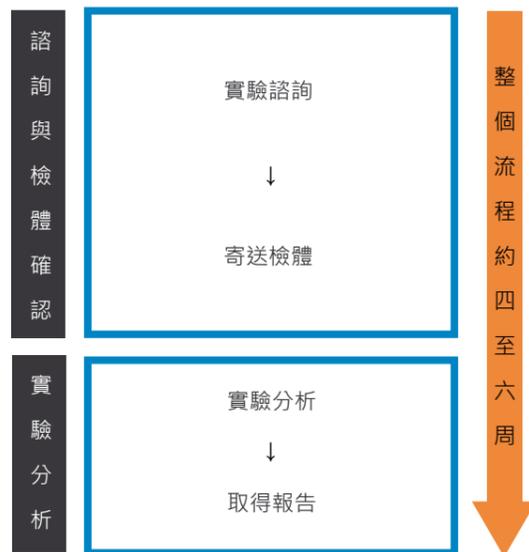


分析服務流程

- 實驗諮詢與樣本確認
- 準備DNA樣本
- 文庫備製與定序分析
- 數據分析取得報告

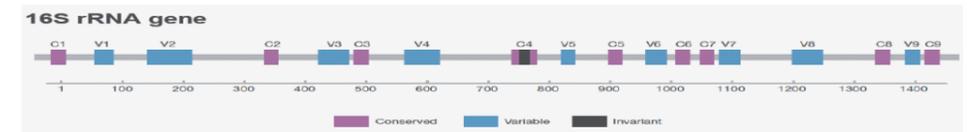
分析服務方式

檢體形式： 樣本萃取DNA
 檢體品質要求： OD 260/280 ratio 1.8~2.0
 檢體量需求： 20ng/ul, 需20ul



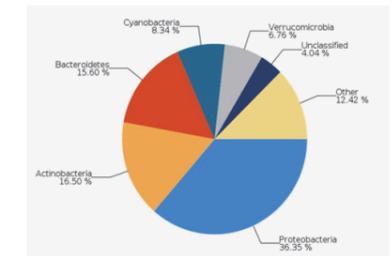
16s rRNA 定序分析

每一個樣品有至少10萬筆illumina NGS reads，進行分類學上界、門、綱、目、科、屬、種不同層級的分析，可以精確的了解已知微生物的量化組成與未知微生物比例。

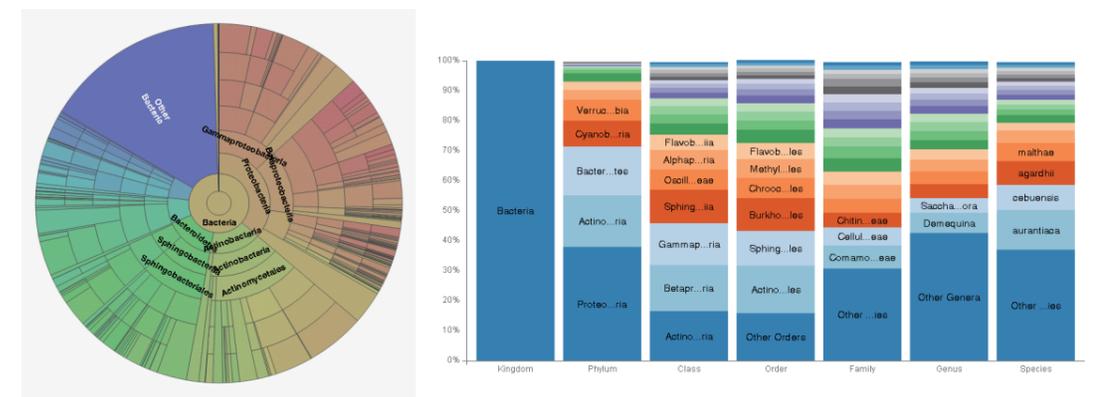


Top Phylum Classification Results

Classification	Number of Reads	% Total Reads
Proteobacteria	35,895	36.35 %
Actinobacteria	16,295	16.50 %
Bacteroidetes	15,400	15.60 %
Cyanobacteria	8,231	8.34 %
Verrucomicrobia	6,673	6.76 %
Unclassified at Phylum level	3,989	4.04 %
Planctomycetes	3,025	3.06 %
Chloroflexi	2,688	2.72 %



菌相分類分析



Species層級分類分析

Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	num_hits	%_hits
Unclassified							187	0.10
Bacteria	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Parabacteroides	soldsteinii	85251	44.54
Bacteria	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Prevotellaceae	Prevotella		24190	12.64
Bacteria	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae	Dysgonomonas	wimpennyi	12329	6.44
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacterii	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter	kwangyangensis	11350	5.93
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Lachnospiraceae	Blautia		7783	4.07
Bacteria	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides	acidifaciens	6372	3.33
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Ruminococcaceae	Oscillospira		2654	1.39
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Lachnospiraceae	Blautia	hansenii	2562	1.34
Bacteria	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Porphyromonadaceae			2390	1.25
Bacteria	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales				1836	0.96
Bacteria	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Akkermansia	muciniphila	1654	0.86
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Lachnospiraceae	Blautia	wexlerae	1532	0.80
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Ruminococcaceae	Ruminococcus		1456	0.76
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Lachnospiraceae	Johnsonella	ignava	1051	0.55
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacterii	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Pedobacter		978	0.51
Bacteria	Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Alkaliphilus	ferroplacidans	932	0.49
Bacteria	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides		911	0.48
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	Lactobacillus		906	0.47
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacterii	Sphingobacteriales	Flexibacteraceae	Emticia	oligotrophica	889	0.46
Bacteria	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides	sartorii	883	0.46
Bacteria	Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Prevotellaceae	Prevotella	dentasini	855	0.45

分類數據與定序讀數比例