



Dritto d'autore: <a href="https://i.123rf.com/profile/kenan">kenan</a> / 123rf Archivio Fotografico</a>

### ExoQuick e ExoQuick-TC - System Biosciences

Purificazione di esosomi da fluidi biologici (250 ul di siero, 5 ml di urine).

SBEX005A1/SBEX0020A1	ExoQuick serum exosome precipitation solution	5/20 ml
SBEX0TC10A1/SBEX0TC50A1	ExoQuick-TC	10/50 ml
SBEX0LP5A1	ExoQuick-LP Lipoprotein Pre-Clear & Exosome Prec. Kit	5 reaz.

### Quick RNA MiniPrep™ - Zymo Research

Sistema universale per isolamento di RNA totale (< 17nt).

ZYR1054/55	Quick RNA MiniPrep™	50/200 Prep
------------	---------------------	-------------

### Quick-cfRNA™ Serum & Plasma- Zymo Research

Kit Specifico per isolamento di cell free RNA da biofluidi.

ZYR1059	Quick-cfRNA™Serum & Plasma	50 Prep
---------	----------------------------	---------

### Quick DNA MiniPrep™ Plus - Zymo Research

Sistema universale per isolamento di DNA.

ZYD4068/69	Quick DNA MiniPrep™ Plus	50/200 Prep
------------	--------------------------	-------------

### Quick-cfDNA™ Serum & Plasma - Zymo Research

Kit Specifico per isolamento di cell free DNA da biofluidi.

ZYD4076	Quick-cfDNA™ Serum & Plasma	50 Preps
---------	-----------------------------	----------

### XCFTM Exosome and cfDNA Isolation Kit (for Serum & Plasma) System Biosciences

Per l'isolamento di DNA libero circolante da siero e plasma

SBXCF100A1	XCFTM COMPLETE Exosome and cfDNA Isolation Kit	20 reaz.
SBXCF200A1	XCFTM Exosomal DNA Isolation Kit	20 reaz.

### ZR FFPE DNA MiniPrep™ - Zymo Research

Isolamento di DNA di alta qualità da un massimo di ~25 µg/prep. Tecnologia "cutoff" per recupero di DNA >50 bp o >500 bp.

ZYD3065/3066	ZR FFPE DNA MiniPrep™	50/200 Prep
--------------	-----------------------	-------------

### NEBNext® dsDNA Fragmentase® - New England Biolabs

Frammentazione del dsDNA tempo-dipendente per generare frammenti di 50-1.000 bp.

M0348S/L	NEBNext® dsDNA Fragmentase®	50/250 reaz.
----------	-----------------------------	--------------

### Ultra-sonicatori per la frammentazione del DNA - Covaris

Diversi modelli per processare da 1 (M220) a 96 campioni (E220). Kit per estrazione di DNA/RNA da campioni FFPE.

### NEBNext® Library Prep Kit - New England Biolabs

BE7645S/L	NEBNext® Ultra™ II DNA Library Prep Kit for Illumina®	24/96 reaz.
BE7765S/L	NEBNext® Ultra™ II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina®	24/96 reaz.
BE7300S /L	NEBNext® Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina® (Set 1)	24/96 reaz.
BE6285S/L	NEBNext® Fast DNA Fragmentation & Library Prep Set for Ion Torrent™	10/50 reaz.
BE7000S/L/X	NEBNext Direct® Cancer HotSpot Panel	8/24/96 reaz.
BE6627S/L/X	NEBNext Direct® BRCA1/BRCA2 Panel	8/24/96 reaz.

Elenco completo di kit e moduli: [www.neb.com](http://www.neb.com)

### MagnaMedics Beads

Bead magnetiche per Size Selection.

MDKT00010005	MagSi-NGS <sup>PREP</sup> Plus	5 ml
MDKT00010075	MagSi-NGS <sup>PREP</sup> Plus	75 ml

### Pippin Prep e Blue Pippin - Sage Science

Strumenti per la separazione di frammenti in automazione.

### Flash Gel System - Lonza

Sistema completo per il recupero di frammenti della dimensione di interesse senza taglio di banda.

L057062	FlashGel™ Device Pack (FlashGel™ Dock, FlashGel™ Power Supply, e FlashGel™ Camera)	1 Kit
L057064	FlashGel Recovery	1 Kit

### Fragment Analyzer – Advanced Analytical Technology

Automazione e precisione per QC delle library NGS. Kit Standard Sensitivity (5 ng/µl) e High Sensitivity (50 pg/µl) per frammenti e smear da 25 a 20.000 bp. FemtoPulse per analisi di DNA fino a 5 fg/µl.

### Lettori a fluorescenza per quantificazione acidi Nucleici - BMG Labtech

FLUOstar Omega e CLARIOstar quantificano dsDNA (50 – 100 ng/µl) in piastre da 96 pozzetti.

### NEBNext® FFPE DNA Repair Mix - NEB

Cocktail di enzimi ottimizzato e validato per la riparazione del DNA da campioni FFPE.

M6630S/L	NEBNext® FFPE DNA Repair Mix	24/96 reaz.
----------	------------------------------	-------------

### NEBNext® Microbiome DNA Enrichment Kit - NEB

BE2612S	NEBNext® Microbiome DNA Enrichment Kit	6 reaz.
---------	--	---------

### NEBNext® rRNA Depletion Kit (Human/Mouse/Rat) - NEB

BE6310S/L/X	NEBNext® rRNA Depletion Kit (Human/Mouse/Rat)	6/24/96 reaz.
-------------	---	---------------

### NEBNext® Poly(A) mRNA Magnetic Isolation Module - NEB

BE7490S/L	NEBNext® Poly(A) mRNA Magnetic Isolation Module	24/96 reaz.
-----------	---	-------------

### GenomiPhi Whole Genome Amplification - GE Healthcare

GEH291081/GEH29108039	Single Cell GenomiPhi	25/100 test
-----------------------	-----------------------	-------------

### Kit e anticorpi validati per ChIP - Cell Signaling Technologies

BK56383	SimpleChIP® Plus Sonication Chromatin IP	1 Kit
BK9003	SimpleChIP® Enzymatic Chromatin IP Kit (Magnetic Beads)	1 Kit

Lista completa degli anticorpi ChIP-validated sul sito [www.cellsignal.com](http://www.cellsignal.com)

### Select-a-Size DNA Clean & Concentrator™ Kit (Select-a-Size DCC™) - Zymo Research

Sistema versatile per la separazione manual di frammenti di DNA

ZYD4080	Select-a-Size DNA Clean & Concentrator™	25 Prep.
---------	---	----------

### NEBNext® Library Quant Kit for Illumina®

BE7630S	NEBNext® Library Quant Kit for Illumina®	100/500 reaz.
---------	--	---------------

**Euroclone S.p.A.**

Via Figino, 20/22 • 20016 Pero (MI) Italy • ☎ +39 02 38195.1 • 📠 +39 02 33913713 • ✉ info@euroclone.it • [www.euroclone.it](http://www.euroclone.it)

Quality Management Systems certified according to ISO 9001 and ISO 13485 international standards

Ed1/1017/PR 1009\_NGS

# Euroclone: guida al Next-Generation Sequencing 2.0



# Next Generation Sequencing (NGS)

Il Next Generation Sequencing è una tecnologia di sequenziamento high-throughput per l'analisi di un altissimo numero di frammenti in parallelo. Esistono diverse piattaforme per la tecnologia NGS, ma con un comune workflow:

## Preparazione del campione e della library di sequenziamento

Il campione di DNA o RNA, dopo frammentazione meccanica o enzimatica, viene legato a sequenze adapter per ancorare i frammenti al supporto di sequenziamento. I frammenti legati costituiscono la "Sequencing Library" (libreria di sequenziamento). È possibile sequenziare interi genomi o frazioni, selezionando le regioni di interesse (Target Enrichment). I geni target possono essere selezionati con diversi metodi:

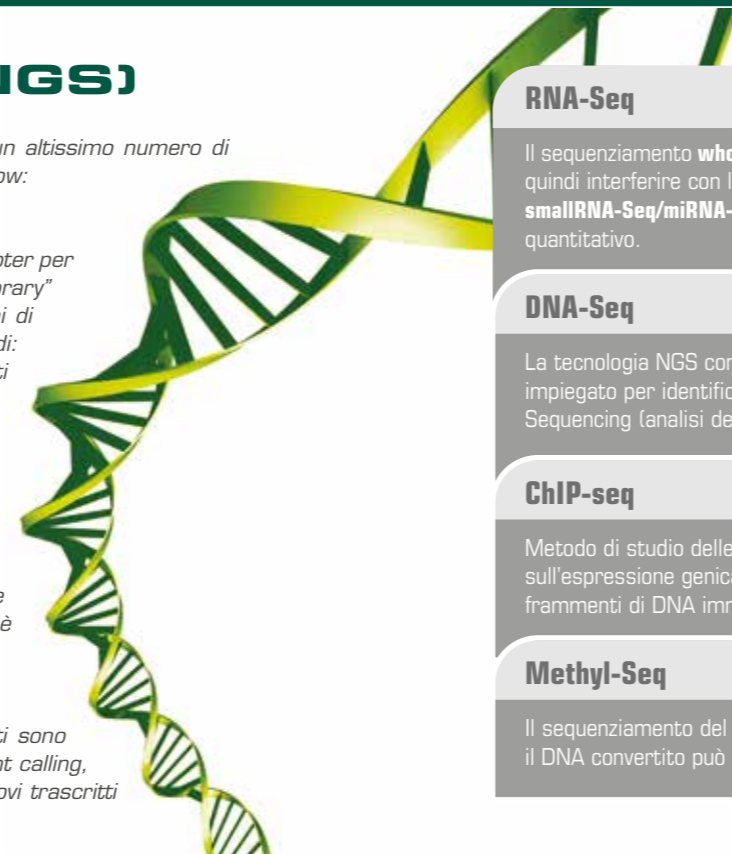
- **Capture Probes:** specifiche sonde "catturano" i frammenti target, che potranno così essere isolati per il sequenziamento.
- **Amplicon Enrichment:** le sequenze di interesse vengono amplificate con specifici primer in PCR, per arricchire il campione delle regioni target.
- **Capture Library Prep:** è un sistema misto, che prevede la cattura con probe marcate delle regioni target e la successiva amplificazione in PCR.

## Amplificazione

La libreria viene amplificata in PCR e la qualità verificata mediante elettroforesi, seguita da selezione e purificazione dei frammenti delle dimensioni adatte per il sequenziamento. Il QC della size selection è fondamentale per garantire la buona riuscita dell'esperimento.

## Sequenziamento

Il sequenziamento avviene su appositi chip su cui vengono immobilizzate le library. Tutti i frammenti sono sequenziati in parallelo e i dati vengono poi elaborati mediante analisi bioinformatica (alignment, variant calling, filtering e annotation). La tecnologia NGS consente di identificare anche sequenze non annotate, nuovi trascritti e/o miRNA (Discovery).



## RNA-Seq

Il sequenziamento **whole-transcriptome** è possibile dopo deplezione degli RNA ribosomali, che rappresentano l'85-90% dell'RNA totale e possono quindi interferire con l'analisi. Il sequenziamento dei soli **mRNA** può essere ottenuto con la pre-selezione dei poly-A-RNA.  
**smallRNA-Seq/miRNA-Seq:** il sequenziamento NGS di smallRNA e microRNA consente di ottenere un profilo di espressione qualitativo e/o quantitativo.

## DNA-Seq

La tecnologia NGS consente di sequenziare rapidamente interi genomi (Whole-Genome-Sequencing o WGS). L'approccio WGS è tipicamente impiegato per identificare mutazioni/varianti correlate con un determinato fenotipo. È possibile restringere il sequenziamento a Exome Sequencing (analisi delle sole regioni codificanti del genoma) o Target Sequencing (sequenziamento di subset di geni o regioni genomiche).

## ChIP-seq

Metodo di studio delle interazioni DNA-proteine (fattori di trascrizione, proteine istoniche e modificazioni cromatiniche), per indagarne l'effetto sull'espressione genica. L'immunoprecipitazione della cromatina, con anticorpi contro la proteina di interesse, è seguita dalla Library Prep sui frammenti di DNA immunoprecipitati.

## Methyl-Seq

Il sequenziamento del metiloma (WGBS) prevede il trattamento del DNA genomico con bisulfite, che converte le citosine non metilate in uracile: il DNA convertito può essere impiegato come input per la preparazione della library e il successivo sequenziamento.

## Preparazione acidi nucleici

## Frammentazione

## Library Prep

## Size Selection

## Quantificazione e QC

## Sequenziamento

**Biofluidi ed Esosomi** - Tecnologia Zymo Research per l'isolamento di DNA cell-free (cfDNA) circolante. Isolamento e caratterizzazione di esosomi da biofluidi in meno di 2 ore senza ultracentrifugazione, kit per l'estrazione simultanea di cfDNA e DNA da esosomi (SBI).

**Tessuti fissati e inclusi in paraffina (FFPE)** - Sistemi di estrazione di DNA, RNA e smallRNA (Zymo Research) e reagenti per la riparazione di DNA danneggiato (NEBNext FFPE DNA Repair Mix). Kit truXTRAC FFPE per rimozione della paraffina ed estrazione di DNA e RNA, da abbinare agli ultra-sonicatori Covaris.

**Cellule, tessuti, piante, ambiente** - Un'ampia varietà di kit offerti da Zymo Research ed Euroclone per isolamento di DNA/RNA da diverse matrici (Tessuti, cellule, piante, insetti, suolo, ecc).

**Microbioma** - Sistema di NEB per arricchimento di DNA microbico da campioni contenenti DNA ospite metilato (compreso l'uomo) che mantiene inalterata la biodiversità microbica. Zymo Research presenta la linea di prodotti ZymoBIOMICS™ per la purificazione di DNA/RNA e un pacchetto di standard microbici unici.

**mRNA** - Kit NEBNext® per la purificazione di mRNA poly(A) mediante biglie magnetiche.

**rRNA depletion** - Kit per la rimozione di RNA ribosomale (80% dell'RNA totale) in esperimenti di RNA-Seq anche in presenza di RNA scarso o degradato (NEB).

**ChIP** - Kit SimpleChip® per digestione enzimatica o sonicazione della cromatina, anticorpi validati e primer di controllo forniti da CST.

**Phi29 Whole Genome Amplification** - GE Healthcare fornisce un sistema per amplificare piccole quantità di gDNA full-length fino a produrre ug di DNA, utilizzabili per NGS e altre applicazioni.

## NEBNext® dsDNA Fragmentase®

Frammentazione di dsDNA, tempo-dipendente per generare frammenti con overhang 5'-P e 3'-OH di 50-1.000 bp. Efficienza comparabile con i sistemi "meccanici" e possibilità di automazione. Coming soon: Sistema di Frammentazione NEB tollerante agli inibitori.

## Ultra-sonicatori Covaris

Una gamma completa di strumenti per la frammentazione del DNA dall'azienda leader del settore. Da 1 a 96 campioni processabili con la tecnologia brevettata AFA™ (Adaptive Focused Acoustics).



## NEB e Zymo Research - NEBNext®

: un pacchetto completo di kit per NGS Library Prep, (Illumina® e Ion Torrent™), per DNA-Seq, RNA-Seq (direzionale e non), smallRNA-Seq, ChIP-Seq, da minime quantità di input (500 pg per DNA, 5 ng per RNA). Gli index per il barcoding sono in formato single- o dual-barcode (fino a 96). I protocolli sono compatibili con l'automazione. Zymo Research offre kit per Whole Genome Bisulfite Sequencing (WGBS) e genome-wide di 5-hmC a partire rispettivamente da 10 pg e 100 ng di DNA.

**Target Enrichment** - I kit NEBNext® Direct sono pannelli pre-designed (Cancer HotSpot panel e BRCA1/2) per Target Sequencing, basati su un sistema misto di cattura delle sequenze target con sonde biotinilate, e successiva amplificazione in PCR. (Input 10 ng - 1 µg DNA). Il coverage è ottimizzato, indipendentemente dalla % GC, con protocollo rapido e adatto anche per campioni critici (es. FFPE). Le sequenze UMI identificano i falsi positivi per Copy Number Variation (CNV) o mutazioni. È possibile richiedere kit NEBNext® Direct Custom, per le proprie sequenze target.

**Fluidigm Juno** - Sistema microfluidico per l'automazione di Library Prep: è possibile disegnare il proprio kit di Target Enrichment e procedere alla preparazione su piastre dedicate. La library ottenuta potrà essere sequenziata su piattaforma Illumina.



## MagnaMedics Beads

Le bead magnetiche MagnaMedics MagSi-NGS<sup>PREP</sup> Plus per Size Selection sono compatibili con l'automazione e assicurano performance e protocollo paragonabili alle bead più comunemente utilizzate.

## Sage Science Pippin Prep e Blue Pippin

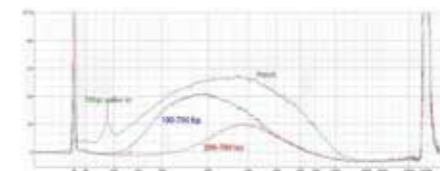
Sistemi automatizzati per size selection da 90 bp a 1,5 kb e 90 bp - 50 kb. Raccomandato da Illumina e Ion Torrent.

## Lonza Flash Gel System

Sistema elettroforetico per la purificazione di frammenti di DNA senza necessità di excisione delle bande in 5-10 min. Recupero: 80-100%.

## Select-A-Size

Metodo facile e veloce (7 min) per la purificazione di frammenti di DNA di dimensioni ≥300 bp, ≥200 bp, ≥150 bp, ≥100 bp, ≥50 bp, fornito da Zymo Research.



## NEBNext Library Quant Kit

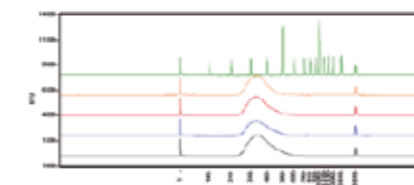
Sistema ad alta sensibilità per la quantificazione di libray NGS Illumina mediante qPCR. Il Kit contiene primer per gli adaptor Illumina P5 e P7 e standard per la quantificazione tra 150 e 1000 bp. NEBioCalculator.neb.com

## Fragment Analyzer

Sistema per analisi accurata e high-throughput di frammenti e smear di library NGS (da 25 a 20.000 bp), gDNA/gRNA, smallRNA, analisi di mutazioni. Raccomandato da Illumina.

## Lettori a fluorescenza BMG Labtech

Strumenti in grado di quantificare fluorofori intercalanti nel dsDNA (50 - 100 ng/µl) in piastre da 96 pozzetti.



## Servizi di sequenziamento

Euroclone offre su richiesta Servizi di Sequenziamento NGS per:

- **miRNA e smallRNA-Seq**
- **RNA-Seq**
- **DNA-Seq**
- **ChIP-Seq**
- **Target Sequencing**

• **Exo-NGS.** Purificazione, caratterizzazione e sequenziamento smallRNA-Seq e RNA-Seq da esosomi (System Biosciences).

• **Methyl-Seq.** Per la preparazione di librerie WGBS (Zymo Research).

Contattaci per maggiori informazioni

