

引物 服务手册

Oligo
Service Handbook
「2023版」





| Make People and Nature Healthier
| Through Biotechnology



关于金斯瑞

ABOUT US

金斯瑞生物科技股份有限公司（HK.1548）是全球重要的生命科学研究与生产服务提供商。植根于坚实的基因合成技术，金斯瑞现已建立四大平台：生命科学服务及产品平台、生物医药合同研发生产（CDMO）平台、细胞治疗平台及工业合成生物产品平台。

金斯瑞成立于2002年，并于2004年在中国南京设立研发和生产总部。2015年，金斯瑞在港交所主板挂牌上市，法人实体遍及中国、中国香港、美国、日本、新加坡、荷兰、爱尔兰等7个国家和地区。业务营运范围覆盖全球100多个国家和地区，为20余万客户提供优质、便捷、可靠的服务与产品。

截至2022年6月30日，金斯瑞在全球拥有超过5,500名员工，其中38%以上的员工拥有博士或硕士学位。金斯瑞拥有多项知识产权，其中包含超过190项授权专利与820多项专利申请，以及高密集数量的技术机密。

秉承“用生物技术使人和自然更健康”的企业使命，金斯瑞立志成为全球“最受信赖的生物科技公司”。截至2022年6月30日，有超过74,700篇经国际同业审阅的学术期刊文献引述了金斯瑞的服务及产品。

光辉历史及里程碑

HISTORY & MILESTONES

2002

创立于美国 新泽西



2014

成立传奇生物
专注于细胞治疗



2017

子公司传奇生物与
杨森就西达基奥仑赛达成
全球战略合作



2013

成立百斯杰生物
主营工业合成生物产品



2015

香港联交所主板上市
(股票代码: HK.1548)



2020

传奇生物登陆纳斯达克
(NASDAQ:LEGN)
生物药CDMO事业部正式命名为金斯瑞蓬勃生物



2022

CARVYKTI® 美国FDA批准上市
欧盟附条件上市许可
日本MHLW批准上市



2018

成立生物药CDMO事业部
(后为金斯瑞蓬勃生物)



2021

集团，子公司蓬勃生物及传奇生物
共获高瓴资本约10亿美元投资



目录

01

引物合成服务简介

技术平台	01
生产能力	02
服务优势	03

02

引物合成服务

DNA引物合成服务	05
RNA合成服务	08
DNA和RNA引物修饰	09
siRNA合成服务	14
大规模寡核苷酸合成服务	15
Trimer引物合成服务	17
高通量引物池合成服务	18

03

分子诊断引物

qPCR探针及引物合成服务	25
NGS引物合成服务	30

04

引物资源中心

生物信息学工具	37
常见问题	38
客户发表文献	43

05

订购指南及联系方式

订购方式	46
订单查询	47

01

引物合成服务简介

技术平台.....	01
生产能力.....	02
服务优势.....	03

金斯瑞引物合成

技术平台

金斯瑞依托20年分子生物学平台，以卓越的品质和服务为客户提供DNA引物、RNA、高通量引物池、大规模寡核苷酸、siRNA、Trimer引物合成服务，同时，提供TaqMan探针和NGS接头、杂交捕获探针、多重PCR引物支持分子诊断应用。

2022年，金斯瑞引物生产部乔迁至全新独立厂房，严格执行环境清洁和污染监控，严控外源污染等干扰因素，确保下游实验顺利开展。



常规/修饰
DNA引物合成



常规/修饰
RNA合成



高通量
引物池合成



大规模
寡核苷酸合成

应用领域

金斯瑞立足不同下游应用，制定针对性工艺与质控标准，为分子生物学基础研究、分子诊断 (qPCR、NGS等)、核酸药等的应用，提供涵盖研发至生产阶段的DNA引物/RNA原料。



分子生物学
基础研究



分子诊断
(qPCR、NGS)

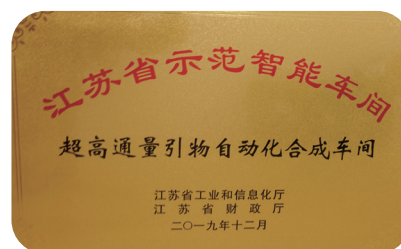


核酸药
(siRNA、ASO、Aptamer等)

生产能力

金斯瑞具备先进的技术与仪器、成熟的SOP流程、经验丰富的技术人员，在20年生产过程中不断优化工艺、提升标准，从而保障高品质、均一性好的DNA引物及RNA交付质量。

- ▶ 执行从原料、生产到发货全流程SOP操作
- ▶ 定期监控生产过程中质量指标
- ▶ 优化的独立纯化流程 (HPLC+/PAGE+)
- ▶ 严格的质控放行标准



合成设备



纯化设备



QC设备



服务优势



专业的资质认证

洁净实验室、ISO 9001、ISO 13485
满足IVD产品注册申报



严苛的质控标准

把控下游应用关键点
提高应用成功率与稳定性



强大的合成能力

单条与引物池合成两大平台
长达200 nt的DNA和长达180 nt的
RNA合成能力

20年

丰富的引物合成经验

30,000+条/天

稳定的生产通量

20,000+客户

客户的信赖之选



线上订购 快速简单
价格周期 尽在掌控

欢迎访问：www.genscript.com.cn

02

引物合成服务

DNA引物合成服务.....	05
RNA合成服务.....	08
DNA和RNA引物修饰.....	09
siRNA合成服务.....	14
大规模寡核苷酸合成服务.....	15
Trimer引物合成服务.....	17
高通量引物池合成服务.....	18

DNA引物合成服务

金斯瑞以专业的技术、优越的服务为科研院校、生物技术公司提供脱盐(RPC)、ePAGE、PAGE和HPLC纯化引物和各种修饰引物，DNA合成长度可长达200 nt，支持PCR扩增、定点突变、分子诊断等分子生物学研究。

服务优势



在线订购 简单快捷



纯度高 碱基错误率低



质量稳定 重复性好

服务详情

金斯瑞通过ISO 9001质量管理认证，原料、生产、质检三大流程标准化管控，确保DNA引物质量与批次间稳定性，从而保障客户实验的成功率和一致性。

类型	纯化方式	长度 (nt)*	周期 (自然日)#	应用
DNA	RPC	3-150	1-2	PCR扩增、全基因合成、DNA测序
	ePAGE	15-59	1	多重PCR、定点突变、RNA干扰、基因构建、克隆
	PAGE	10-110	2-3	分子诊断、突变文库、蛋白结合凝胶迁移电泳分析、商业化的诊断引物(非荧光修饰)
		111-200	4-9	
	HPLC	2-89	3-4	带疏水基团的修饰引物、商业化的诊断探针和引物
		90-150	6-8	
	PAGE+	10-150	2-6	商业化应用的NGS接头等诊断引物(非荧光修饰)
HPLC+	6-89	3-8	商业化应用的TaqMan探针等诊断核酸原料(纯度可高达95%，也可提供不同纯度)	

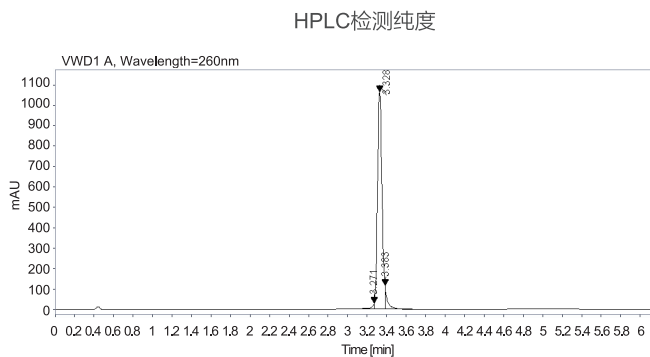
*其他DNA引物长度欢迎详询，邮件发送至oligo@genscript.com.cn或拨打400-025-8686转5812或5815

#交付周期会根据长度和交付量变化，请登录金斯瑞官网引物在线订购系统下单查询。

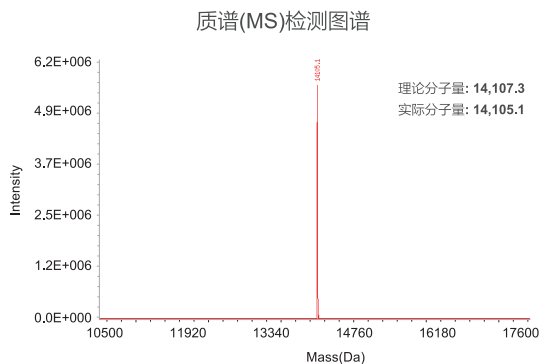
纯化方式

类型	纯化方式	原理	优势	应用			
				<10 nt	10-39 nt	40-59 nt	60-120 nt
科研 级别	RPC (脱盐纯化)	利用反向硅胶柱进行纯化，有效去除盐分，纯化后引物的纯度可满足大多分子生物学实验需求。	速度快，周期短； 通量大，价格优。	适用	推荐	适用	适用
	ePAGE 纯化	利用寡核苷酸纯化柱等方式，去除产品中的短序列及杂质，凭借自动化设备，批量高效地完成DNA的纯化与回收。	以更低的价格和更短的交付周期，提供与PAGE相近纯度与质量的产品(<40 nt)。	不适用 (<15 nt)	推荐	适用	不适用
	PAGE 纯化	采用变性聚丙烯酰胺凝胶电泳等方式，对不同长度的寡核苷酸链及杂质进行分离与回收，对长寡核苷酸链的分离更有优势。该纯化方式也可适用于磷酸、生物素等30余种修饰引物的纯化。	纯度可>90%，对长链引物(>50 nt)的纯化特别有效，强烈建议长链引物(>50 nt)选用PAGE纯化。	不适用	适用	适用	推荐
	HPLC 纯化	利用高效液相色谱对引物进行纯化，能达到很高的纯度，主要用于短链(<40 nt)和修饰引物的纯化。成本较高，批量生产效率不高。	反相HPLC纯化后纯度可大于90%，可以有效去除N-1短片段。带疏水基团的修饰引物目前仅能通过HPLC纯化。	适用	推荐	适用	适用
分子 诊断 级别	PAGE+ 纯化	在洁净实验室完成，利用变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离目标序列，每条引物均采用独立的纯化体系和一次性耗材，尽可能地避免了混入其他引物的可能。也可用于磷酸、生物素等30余种修饰引物的纯化。	有效将交叉污染率控制到低至0.01%的水平， 特别适合应用于NGS接头的纯化。	不适用	适用	适用	推荐
	HPLC+ 纯化	在洁净实验室完成，每条引物纯化前，色谱柱经多道特殊冲洗程序彻底清除残余，且不同引物间保持合理间隔，区分开纯化，尽可能地避免了外源污染。	严控外源污染，40个循环内，NTC无起峰， 特别适合应用于TaqMan探针的纯化。	适用	推荐	适用	适用

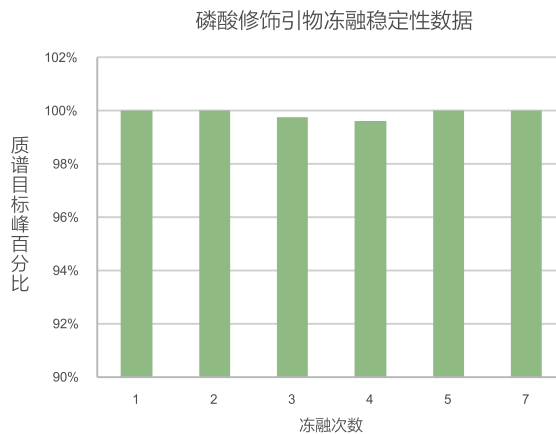
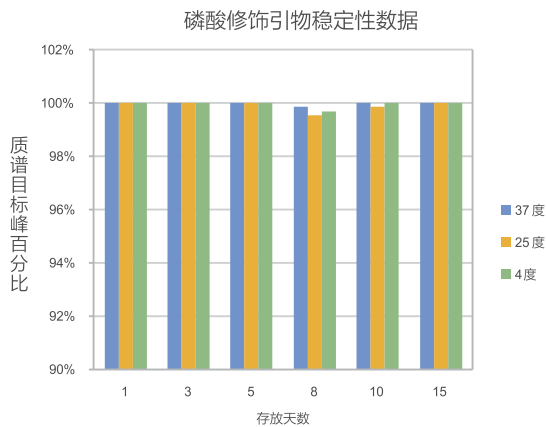
案例分析



纯度高，避免干扰实验的因素



分子量偏差 $\leq 0.05\%$ ，保障实验成功率



修饰稳定，温度、冻融、存放时间影响小



1分钟学会在线订购DNA引物 / RNA

操作简单，报价清晰，交付详情一目了然

RNA合成服务

化学合成RNA作为一种重要研究工具，广泛应用于基因功能分析、新型核酸治疗策略开发等研究应用中。

金斯瑞提供交付快、质量优、更经济的定制序列的RNA合成服务，包括普通RNA合成、RNA修饰及标记、嵌合DNA (DNA和RNA的混合结构)、2'-OMe-RNA及其它反义RNAs合成等服务。通过ESI质谱检测分子量、通过HPLC检测纯度，严格执行QC检测标准，多种合成规格、修饰类型、定制化QC可选，支持科研工作者和工业应用客户的不同需求。

服务优势



强大的RNA合成能力

合成长度长达180 nt，交付量高达kg级



优越的产品质量

分子量偏差小、纯度高、ISO 9001 认证



20年+丰富合成经验

稳定的工艺，批次间一致性好

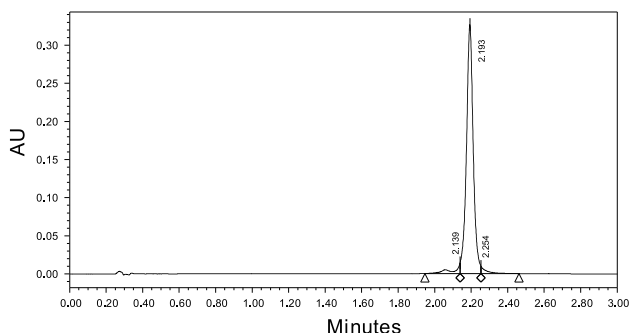
服务详情

类型	纯化方式	长度(nt)	周期(自然日)*	交付物	应用
RNA	RNase free HPLC PAGE/RPC	6-110	11-15	冻干粉、COA文件、 MS检测报告	CRISPR、基因功能分析、 RNA疗法研究

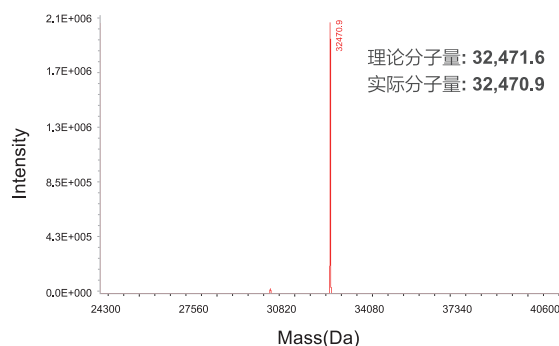
*其他RNA长度欢迎详询，邮件发送至oligo@genscript.com.cn或拨打400-025-8686转5812或5815。

#交付周期会根据长度和交付量变化，欢迎登陆金斯瑞官网引物在线订购查询和下单。

案例分析



HPLC检测，RNA纯度高



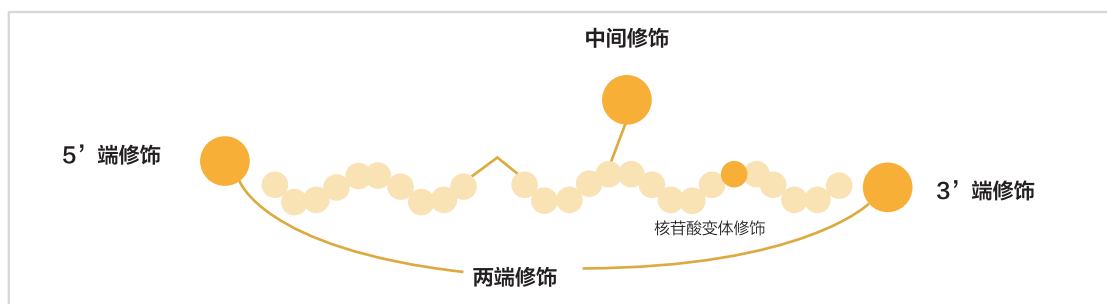
MS检测，RNA分子量偏差 $\leq 0.05\%$

DNA和RNA引物修饰

修饰基团位置

在寡核苷酸合成过程中添加具有各种功能的修饰基团，可以支持各种不同目的分子生物学研究，例如：

- 在寡核苷酸3'端添加Inverted dT等修饰，可以起到封闭作用，阻止PCR延伸；
- 在寡核苷酸3'端添加荧光基团、5'端添加淬灭基团，可以制备TaqMan探针，检测目标序列；
- 在寡核苷酸中间添加硫代等修饰，可以起到避免外源核酸酶的降解作用；
- 在寡核苷酸中间添加dl等修饰，可以模拟自然界存在的碱基。



DNA修饰基团信息

欢迎查看金斯瑞可以提供的DNA修饰种类和修饰位置，其他修饰可以根据原料情况评估是否可以承接。

★ 连接类修饰

修饰类别	修饰名称	修饰位置
生物素修饰	Biotin	5'端 / 3'端
	Biotin dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Biotin-TEG	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Dual Biotin	5'端
	Desthiobiotin-TEG	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	PC Biotin	5'端
氨基修饰	Amino Modifier C3	5'端
	Amino Modifier C6	5'端 / 中间修饰

修饰类别	修饰名称	修饰位置
氨基修饰	Amino Modifier C6 dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Amino Modifier C7	3'端
	Amino Modifier C12	5'端
	5'-Amino-dT-CE Phosphoramidite	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	iUniAmM	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	AOP-iUniAmM	5'端 / 3'端 / 中间修饰
巯基修饰	Thiol Modifier C3 S-S	3'端

修饰类别	修饰名称	修饰位置
巯基 修饰	Thiol Modifier C6 S-S	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Thiol Modifier C6 S-S dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Dithiol Serinol	5'端 / 3'端 / 中间修饰
地高辛	Digoxigenin	5'端 / 3'端
胆固醇	Cholesteryl	3'端
	Cholesteryl-TEG	5'端 / 3'端
甲基丙烯酸酯	Acrydite	5'端
点击反应 相关修饰	Hexynyl	5'端
二苯基环 辛炔	DBCO	5'端

★ 间臂类修饰

修饰类别	修饰名称	修饰位置
间臂 修饰	Spacer 18	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Spacer 9	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Spacer C6	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Spacer C3	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	dSpacer	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	PC Spacer9	5'端 / 中间修饰

★ 淬灭基团

修饰类别	修饰名称	修饰位置
淬灭 基团	BHQ-1	5'端 / 3'端
	BHQ1-dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	BHQ2	3'端
	BHQ2-dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	BHQ3	3'端
	BlackBerry Quencher 650	5'端 / 3'端
	BlackBerry Quencher 650 dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Dabcyl	3'端
	Dabcyl-dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
MGB	3'端	

★ 荧光基团

修饰类别	修饰名称	修饰位置
荧光 基团	6-FAM	5'端 / 3'端
	6-FAM dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	6-TET	5'端
	6-JOE	5'端
	6-VIC	5'端
	6-HEX	5'端
	6-HEX dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Quasar 570	5'端 / 3'端
	Quasar 670	5'端 / 3'端
	CY3	5'端 / 3'端
	CY5	5'端 / 3'端
	CY5.5	5'端 / 3'端
	CY7	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	CY3 dT	中间修饰
	CY5 dT	中间修饰
	NED	5'端
	6-TAMRA	5'端 / 3'端
	6-ROX	5'端 / 3'端
	Texas Red-X	5'端 / 3'端 / 中间修饰
Methylene Blue	5'端	
CAL FLOUR RED 610	5'端	

★ 稳定类修饰

修饰类别	修饰名称	修饰位置
硫代	Phosphorothioate	中间修饰
五碳糖的 2位和4位	Locked Nucleic Acid	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	5-methyl dC	5'端 / 3'端 / 中间修饰

★ 封阻类修饰

修饰类别	修饰名称	修饰位置
核苷酸倒置	inverted dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Inverted abasic	5'端 / 3'端 / 中间修饰
五碳糖2位和3位	Dideoxy-bases	3'端
磷酸化修饰	Phosphorylation	5'端 / 3'端
	Adenylation	5'端

★ 其它修饰基团

修饰类别	修饰名称	修饰位置
/	Peptide-oligonucleotide conjugates	5'端 / 3'端
	Aminobutylethyl isoluminol	5'端
	Thymidine Glycol	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Palmitate acid	5'端 / 3'端
	puromycin	3'端
	Symmetric Doubler	5'端 / 3'端
	DMT ON	5'端
	TCO	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Nitroindole	5'端 / 中间修饰

★ 特殊碱基

修饰类别	修饰名称	修饰位置
碱基修饰	Ferrocene dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Ferrocene dI	5'端 / 中间修饰
	2-Aminopurine	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	5-Fluoro dU	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	U	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	I	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	2'-O-Methyl-5-Methyl C	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	5-Hydroxymethyl dC	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	5-Carboxy dC	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	5-Formyl dC	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	5-Iodo dC	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	溴代	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	iso deoxy bases	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	5-methyl isodeoxycytosine	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	7-deaza-2'-dG	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	N6-Methyl dA	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	N1-Methyl-dC	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	N3-Methyl-dC	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	O4 Triazolyl dU	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	8-oxo-dG	5'端 / 3'端 / 中间修饰

RNA修饰基团信息

欢迎查看金斯瑞可以提供的RNA修饰种类和修饰位置，其他修饰可以根据原料情况评估是否可以承接。

★ 连接类修饰

修饰类别	修饰名称	修饰位置
生物素修饰	Biotin	5'端 / 3'端
	Biotin-TEG	5'端 / 3'端
	Biotin dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰

修饰类别	修饰名称	修饰位置
生物素修饰	Dual Biotin	5'端
	Desthiobiotin-TEG	3'端
	PC Biotin	5'端

修饰类别	修饰名称	修饰位置
氨基修饰	Amino Modifier C3	5'端
	Amino Modifier C6	5'端
	Amino Modifier C6 dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Amino Modifier C6 rU	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Amino Modifier C7	3'端
	Amino Modifier C12	5'端
	iUniAmM	中间修饰
	5-Amino dT	5'端
地高辛	Digoxigenin	5'端 / 3'端
胆固醇	Cholesteryl	3'端
	Cholesteryl-TEG	5'端 / 3'端

★ 间臂类修饰

修饰类别	修饰名称	修饰位置
间臂修饰	Spacer 18	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Spacer 9	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Spacer C6	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Spacer C3	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	dSpacer	5'端 / 3'端 / 中间修饰

★ 淬灭基团

修饰类别	修饰名称	修饰位置
淬灭基团	BHQ-1	3'端
	BHQ1-dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	BHQ2	3'端
	BHQ2-dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	BHQ3	3'端
	BlackBerry Quencher 650	5'端 / 3'端
	BlackBerry Quencher 650 dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Dabcyl	3'端
	Dabcyl-dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	MGB	3'端

★ 荧光基团

修饰类别	修饰名称	修饰位置
荧光基团	6-FAM	5'端 / 3'端
	6-FAM dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	CY3	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	CY5	5'端 / 3'端
	CY5.5	5'端 / 3'端
	CY7	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Quasar 570	5'端 / 3'端
	Quasar 670	5'端 / 3'端
	6-TAMRA	5'端 / 3'端
	6-ROX	5'端 / 3'端
	6-VIC	5'端
	Texas Red-X	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Methylene Blue	5'端

★ 稳定类修饰

修饰类别	修饰名称	修饰位置	
硫代磷酸酯键修饰	Phosphorothioate	中间修饰	
	五碳糖的2位	2'-O methyl A	5'端 / 3'端 / 中间修饰
		2'-O methyl G	5'端 / 3'端 / 中间修饰
		2'-O methyl C	5'端 / 3'端 / 中间修饰
		2'-O methyl U	5'端 / 3'端 / 中间修饰
		2'-MethoxyEthoxy A	5'端 / 3'端 / 中间修饰
		2'-MethoxyEthoxy G	5'端 / 3'端 / 中间修饰
		2'-MethoxyEthoxy MeC	5'端 / 3'端 / 中间修饰
		2'-MethoxyEthoxy T	5'端 / 3'端 / 中间修饰
		2'-Fluoro C	5'端 / 3'端 / 中间修饰
		2'-Fluoro U	5'端 / 3'端 / 中间修饰
		2'-Fluoro A	5'端 / 3'端 / 中间修饰
		2'-Fluoro G	5'端 / 3'端 / 中间修饰
		2'-Fluoro-Arabinonucleic Acid	5'端 / 3'端 / 中间修饰

修饰类别	修饰名称	修饰位置
五碳糖的 2位和4位	Locked Nucleic Acid	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	5-Methyl dC	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	5-Methyl rC	5'端 / 3'端 / 中间修饰

★ 封阻类修饰

修饰类别	修饰名称	修饰位置
核苷酸 倒置	inverted dT	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	Inverted abasic	5'端 / 3'端 / 中间修饰
五碳糖2位 和3位	Dideoxy bases	3'端
磷酸化 修饰	Phosphorylation	5'端 / 3'端
	Adenylation	5'端

★ 其它修饰基团

修饰类别	修饰名称	修饰位置
/	TCO	5'端 / 3'端
	puromycin	3'端
	Thymidine Glycol	中间修饰
	Symmetric Doubler	5'端 / 3'端 / 中间修饰

★ 特殊碱基

修饰类别	修饰名称	修饰位置
/	2-Aminopurine	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	5-Fluoro dU	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	2-Fluoro I	中间修饰
	2-methyl I	中间修饰
	Chimeric DNA base	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	ri	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	2'-O-Methyl MeC	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	5-Carboxy dC	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	5-Formyl dC	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	溴代	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	N6-Methyl dA	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	N6-Methyl rA	5'端 / 3'端 / 中间修饰
	1-Methyl-PseudoUridine	5'端 / 3'端 / 中间修饰



更多修饰种类与介绍、原理与应用，
请扫码登陆官网查看

高通量siRNA合成服务

小干扰RNA(Small interfering RNA, siRNA)是一个长20到25个核苷酸的双链RNA, 参与RNA干扰(RNAi)现象。根据中心法则, DNA转录后产生mRNA, mRNA翻译产生蛋白, 而siRNA可以和与其序列互补的mRNA结合, 并使该mRNA降解, 从而干扰特定基因对应蛋白的表达。siRNA可应用于基因功能、靶点验证、小核酸药研究, 基于siRNA的药物可在mRNA水平抑制疾病基因表达, 且具备高效、低毒、特异性好的优势, 其在抗病毒性、抗肿瘤、治疗高脂血症等药物开发领域具有巨大潜力。

金斯瑞依托强大的寡核苷酸合成平台, 可为客户提供常规的siRNA、各类修饰和标记的siRNA合成服务。金斯瑞严格执行ISO 9001:2015质控标准, 通过ESI质谱、HPLC纯度检测等质控方式, 确保交付给客户高质量的siRNA产品。

服务优势



纯度高、序列正确

- HPLC检测纯度, 全长双链纯度可高达90%
- MS检测分子量, 偏差小于0.05%



价格经济、交付快

- 匹配不同研究阶段, 高性价比
- 即买即用, 仅需溶解即可直接用于实验



齐全的化学修饰

- 2'-羟基甲基化、氟代、磷酸、硫代等多种修饰
- 修饰稳定, 支持下游应用



强大的合成能力

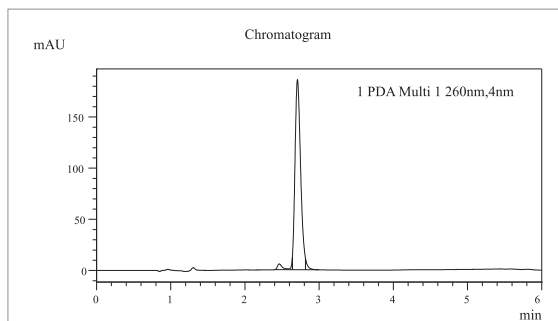
- 20+年寡核苷酸合成经验、通量大
- 严控内毒素, 支持定制化质控要求

服务详情

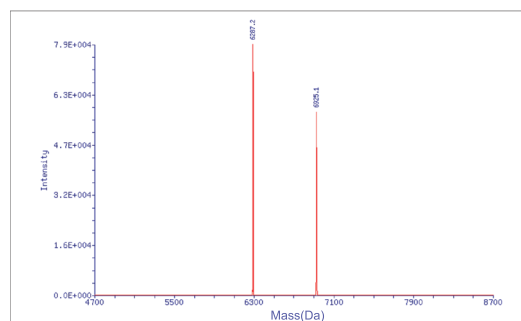
类型*	全长双链纯度	规模	质检	交付内容	周期/价格	应用
科研级siRNA	>80%	<20 nmol	MS HPLC	单管或96孔板 干粉或溶液 COA文件/质检报告	欢迎详询	基因功能/信号通路研究、靶点验证、siRNA核酸药筛选阶段等
定制级siRNA	>90%	≥20 nmol				siRNA核酸药细胞/动物模型药效与毒理验证实验等

*siRNA可以接受的修饰基团信息请参考第11页的RNA修饰基团信息

案例分析



双链siRNA HPLC图谱：纯度高



双链siRNA MS图谱：分子量正确

大规模寡核苷酸合成服务

金斯瑞的大规模寡核苷酸合成平台配备了先进的设备和技术，可以实现毫克到千克级别的DNA引物和RNA寡核苷酸合成。该平台不仅可以提供标准的、未经修饰的寡核苷酸，同时也可生产复杂的需要多种修饰的寡核苷酸，精准匹配核酸药开发 (siRNA、aptamer、ASO 等)、分子诊断以及其他核酸研究领域。

服务优势



更多合成规模

- 合成量从25 mg到kg级别，满足客户不同阶段需求
- DNA、RNA均可合成



更高纯度品质

- HPLC纯度可达90%以上
- 纯化工艺优化提升，产品含盐量低，降低细胞毒性



更全修饰类型

- 多种化学修饰 (如锁核酸LNA, 硫代, 甲基化, 2-OMe等) 和荧光标记
- 卓越的合成能力满足客户定制化需求



更多定制化服务

- 定制化纯度以及QC检测
- 资深研发技术支持团队全程对接，为您提供更顺畅专业的技术服务

应用领域



核酸药开发

siRNA、ASO、Aptamer、miRNA



亲和纯化填料制备

合成Oligo dT，与基质键合用于分离mRNA等



分子诊断引物

遗传学诊断、伴随诊断、病原微生物检测、肿瘤早筛等



核酸结构研究

X射线晶体学和NMR研究等生物物理研究

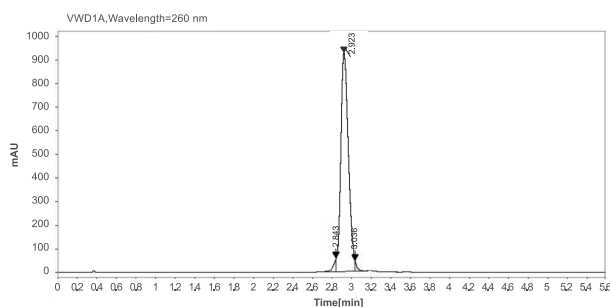
服务详情

类型	长度*	交付量*	交付形式	周期	QC
DNA	≤60 nt	25 mg-1,000 g	冻干粉	≤100g: 10-15天	质谱检测: 分子量偏差≤0.05% HPLC检测: 纯度≥90%*
	61-100 nt	25 mg-10 g		欢迎详询	
RNA	≤60 nt	25 mg-100 g		10-24天	
	61-100 nt	欢迎详询		欢迎详询	

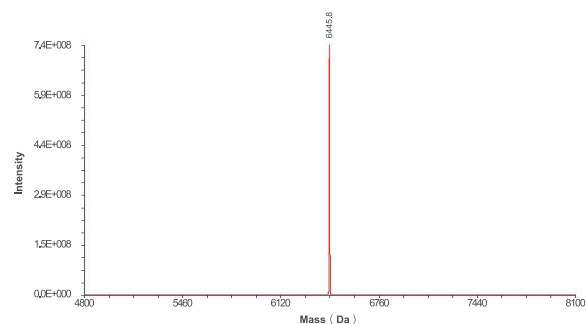
* 其他长度、交付量、纯度欢迎详询，提供定制化服务。邮件发送至oligo@genscript.com.cn或拨打电话 400-025-8686转5812或5815，专业技术支持为您服务。

案例分析

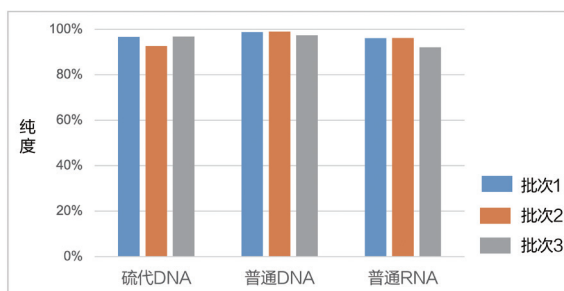
金斯瑞拥有ISO 9001质量管理认证，从原料、生产、质检、发货各流程严格标准化管理，确保合成DNA/RNA的质量与批次间稳定性，为客户的研发以及商业化应用提供坚实有力的保障。



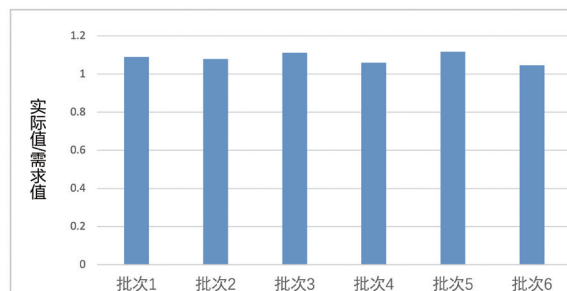
HPLC检测，纯度≥90%



MS检测，分子量偏差≤0.05%



引物纯度的批次间稳定性



定量的批次间稳定性

Trimer引物合成服务

Trimer引物是3个核苷按预定种类和顺序连接起来所形成的三联核苷，这些不同的三联核苷与不同的氨基酸一一对应，将多种Trimer引物作为整体的合成原料，合成至序列中预定位置，即可得到符合预定序列的引物库。

金斯瑞提供应用Trimer引物原料进行的引物合成服务，可用于下游文库构建应用，支持后续蛋白定向进化、抗体筛选、药物靶点筛选与药物发现、酶的优化等方面的研究。

服务优势



精准的定制化合成

避免非预期突变和终止密码子
支持多位点及氨基酸定制比例突变



覆盖度高、均一性好

保证文库多样性和均一性
避免建库/筛选错失符合目标的序列



更经济、交付快

针对高多样性文库性价比更高
保障下游应用快速推进

服务详情

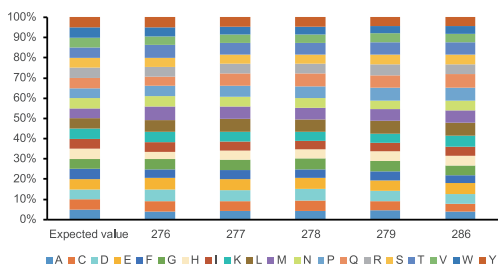
金斯瑞应用Trimer引物原料，可以提供以下规格的引物合成服务，用于后续文库构建，支持大肠杆菌和酿酒酵母表达系统*。同时，还可以提供后续构建的Trimer 组合突变文库，包含PCR产物、质粒、甘油菌。

引物长度*	氨基酸位点数*	交付量*	周期	交付物	QC
≤100 nt	≤12	约2 nmol [#]	10个自然日	冻干粉 (混合引物)	质谱 NGS测序(定制化)

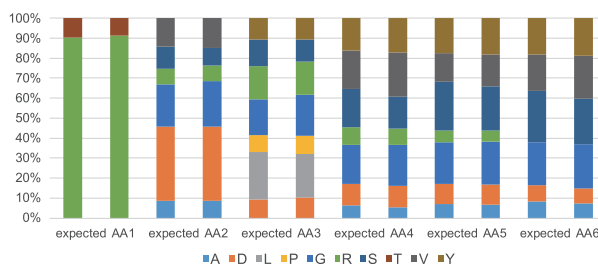
*其他表达系统、引物长度、密码子位点数、交付量欢迎详询，提供定制化服务。邮件发送至`oligo@genscript.com.cn`或拨打电话 400-025-8686转5812或5815，专业技术支持为您服务。

[#]根据引物长度不同，交付量有所不同。

案例分析



序列覆盖率100%，5个饱和突变位点的20种氨基酸比例分布高度均一



支持非等比例定制化突变，各种氨基酸比例分布与设计比例高度匹配

高通量引物池合成服务

金斯瑞开发的电化学半导体芯片技术，可实现1张芯片上合成上高达840万条的核苷酸序列，较之传统引物合成，节省高达90%的经费和时间成本，低至1分钱/碱基，为您提供更快速经济的文库构建方案，支持后续高通量筛选。

CRISPR sgRNA文库构建

突变文库构建

NGS杂交捕获探针文库构建

服务优势



节省经费与时间成本

高通量合成，低至1分钱/碱基



高效的建库与筛选方案

序列覆盖率>99%



实验重复性好

均一性高，芯片间差异小

服务详情

金斯瑞引物池采用电化学半导体芯片，精准控制每条引物序列的准确性，同时在密闭结构仪器内合成，反应效率不受外界水分、空气的影响。

芯片规格	长度 (nt)	合成引物条数/张芯片	周期 (周)
12 K	10-170 nt*	12,472	1-2
GenTitan HiFi - 92 K		91,766	3
GenTitan HD - 8 Million		840万	2

*150-200 nt、92k芯片周期请详询，2种规格的芯片可任意组合，无最低起定条数，为您量身定制灵活经济的引物池。

QC标准:

交付量检测: NanoDrop定量

序列有效长度检测:
标准QC序列扩增监控*

序列均一性检测: NGS检测*

*具体信息请详询。

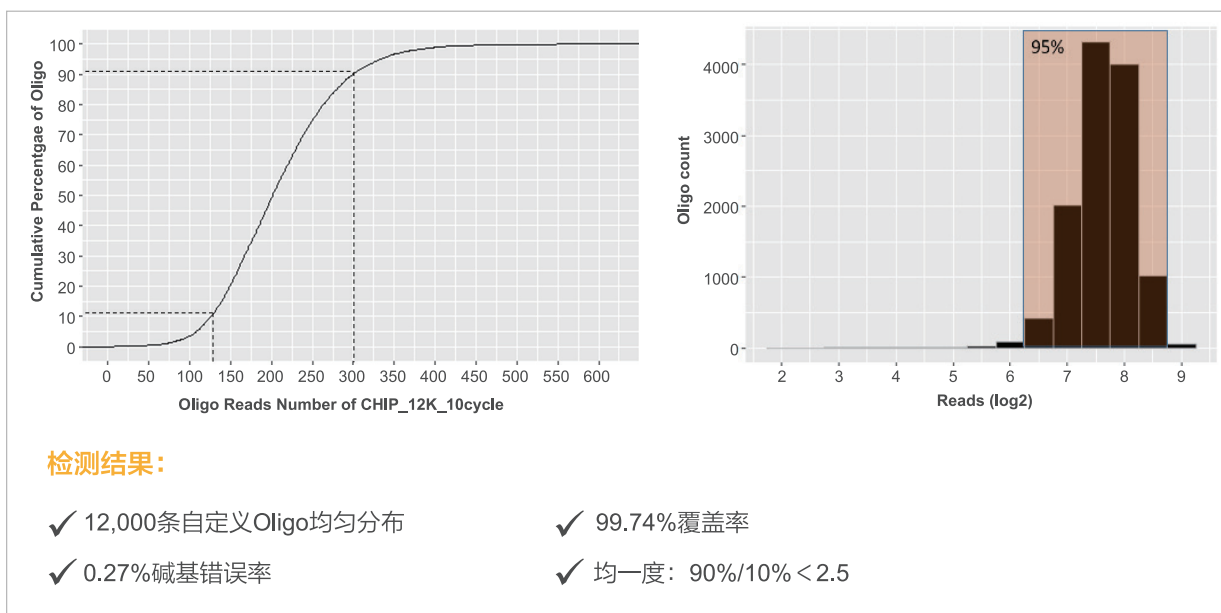
案例分析



客户订单：12,000条核苷酸序列的引物池，长度125 mer

金斯瑞方案：12 K芯片，半导体技术合成，一周内交付，合成后少量扩增

QC检测结果：用NGS测序



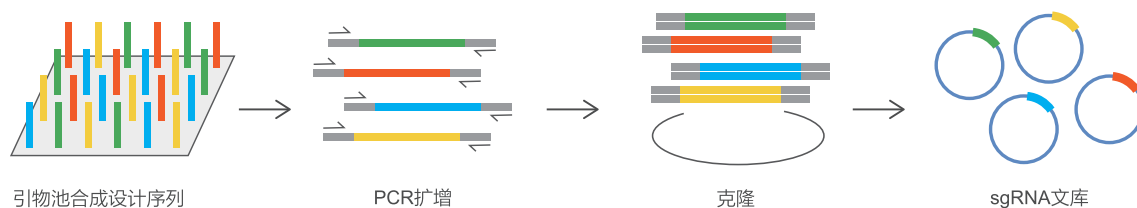
引物池的应用与优势

① CRISPR sgRNA文库构建

基因编辑实验中，通过引物池建立sgRNA文库，可以用于筛选对目标基因编辑效率高的sgRNA序列，或筛选出符合研究要求的目的基因。

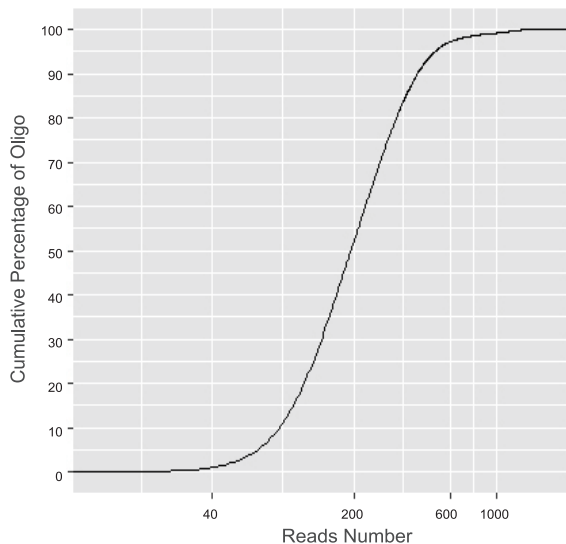
金斯瑞引物池应用，通过扩增和克隆制备的sgRNA文库，具有多样性和均一性高的优越性能，即可以涵盖所有设计的序列，且每条序列的合成量基本一致，确保高效、平行地开展后续高通量筛选实验。

引物池用于CRISPR sgRNA文库构建的流程



实例分享

实验内容：利用引物池合成一个包含62,804条序列的sgRNA文库，通过NGS检测sgRNA文库的覆盖率和均一性。



测序条数	62,804
测序数据量 (GB)	0.67
reads 数 (百万)	14.90
Q30	85.30%
覆盖率 (测序深度 $\geq 1\times$)	100%
10%序列reads数*	88
90%序列reads数*	412
90%/10%* (克隆后)	4.68

覆盖率高：金斯瑞合成的引物池中，全部的设计序列至少被测序测到1次，表征交付的合成序列涵盖全部客户需要的设计序列。

均一性好：90%/10%数值表征文库中不同序列合成量的均一性，越低代表均一性越好，基于金斯瑞引物池构建的sgRNA文库，90%/10%数值低至4.68，避免丰度较低的序列在扩增时丢失。

*科普小贴士：

10%序列reads数：序列的reads数由少到多进行排名，排在10%的序列的reads数。由于序列reads数与序列合成量呈正相关，故可以此数据表征合成量由少到多排名，排在10%的序列的合成量。

90%序列reads数：序列的reads数由少到多进行排名，排在90%的序列的reads数。

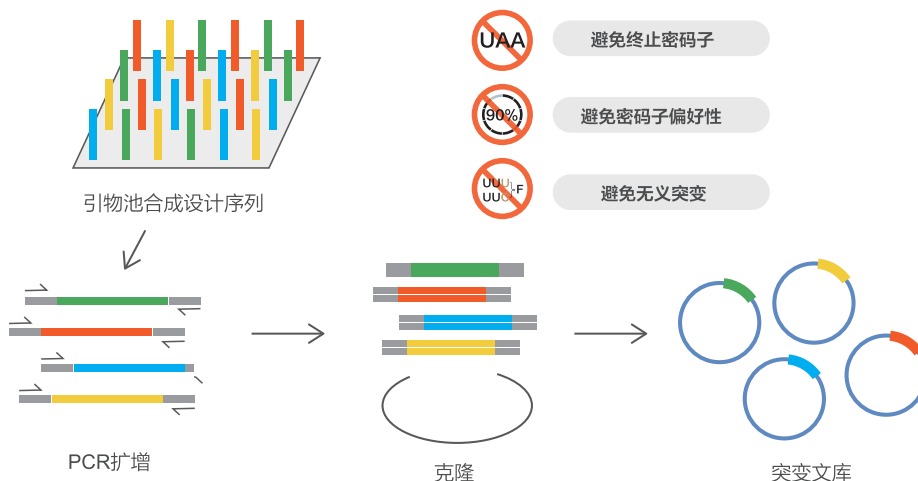
因此，90%/10%表征合成量偏大的序列与合成量偏小的序列之间的合成量倍数关系，是业内常用的表征文库中不同序列合成量的均一性的参数。

2 突变文库的构建

在研究分子序列和蛋白功能之间的调控与关联时，利用引物池技术构建突变文库，合成大量DNA的调控区域或突变序列，从而找到符合研究目标的序列。

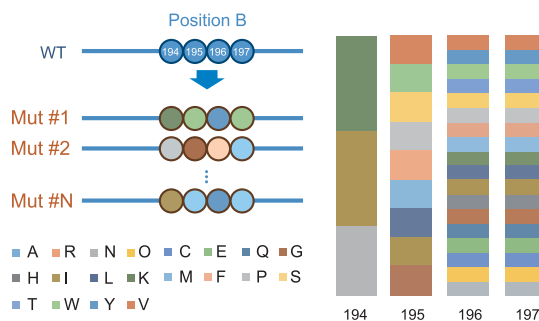
金斯瑞引物池经过扩增和克隆得到突变文库，序列多样性优于传统建库方案，覆盖率和均一性高，即可以涵盖所有设计的序列，且每条序列的合成量差异小。同时，基于引物池合成技术的建库成本，将远低于传统基因合成后定向突变的方案。

引物池用于突变文库建库流程



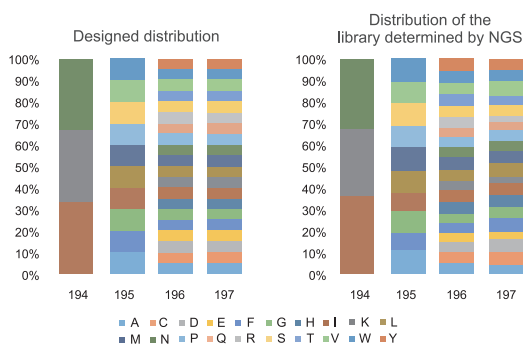
实例分享

实验内容：针对某野生型蛋白，对194-197位的氨基酸进行突变，其中，196、197位氨基酸要求进行饱和突变（即指定的氨基酸用所有19种氨基酸进行替代），同时，194位要求突变为指定的3种氨基酸，195位要求突变为指定的10种氨基酸，要求突变成每一种氨基酸的概率均等，如右图。同时，以NGS测序结果论证文库质量。



覆盖率高：NGS测序结果显示，突变文库序列翻译为氨基酸序列后（以下右图），与设计的氨基酸序列一致（以下左图），涵盖设计的所有位点氨基酸突变的种类，符合预期实验设计。

均一性好：突变文库序列翻译为氨基酸序列后（以下右图），每一种氨基酸突变所占的百分比非常均一，避免浓度差异干扰下游实验，保证下游实验平行可信。

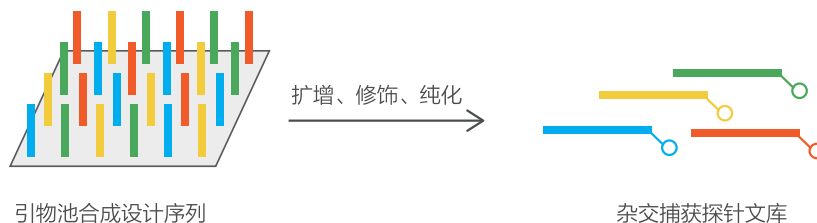


3 NGS杂交捕获探针文库构建

NGS建库时，通过引物池合成构建杂交捕获探针文库，既可以用于目的基因的捕获与检测，也可以用于筛选靶序列的特异性探针序列。

基于金斯瑞引物池，通过扩增、修饰和纯化制备的杂交捕获探针文库，凭借覆盖率和均一性高的优越性能，展示出了捕获片段覆盖率高、捕获效率高和重复性好的特点，以远低于杂交捕获探针文库成品(单条引物合成后混合)的价格，即可获得相近的捕获效果，更经济。

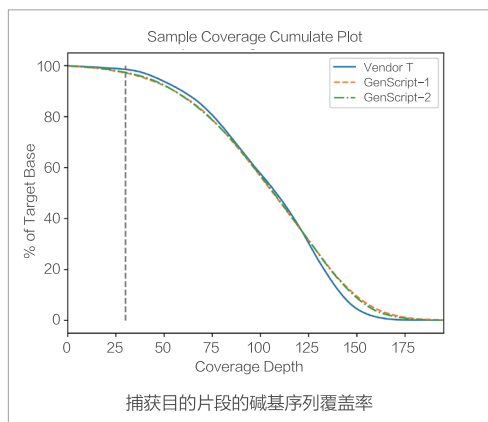
引物池用于杂交捕获探针文库构建的流程



*NGS杂交捕获探针文库：仅提供修饰纯化后的文库，可直接用于下游实验

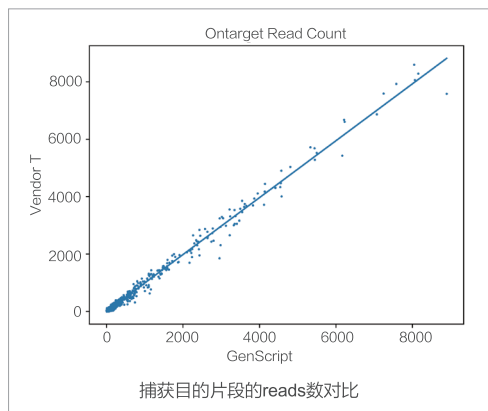
实例分享

实验内容：在800 kb的人类基因组上，捕获来自12种肿瘤组织的127个基因序列的片段，对比使用金斯瑞引物池构建的杂交捕获探针文库（芯片合成技术）与杂交捕获探针文库成品（供应商T，单条合成技术）的捕获覆盖率、捕获效率和平行实验间的重复性。



捕获片段覆盖率高：当测序深度 $\geq 30\times$ 时，捕获探针文库捕获目的片段的碱基序列覆盖率达97.15%，与捕获探针文库成品的碱基序列覆盖率水平一致，两者不同测序深度的碱基序列覆盖率相近，可满足目的基因的捕获和后续检测，表明芯片技术可以更低的价格替代单条合成技术，用于杂交捕获探针文库构建。

重复性好：2次平行实验中，基于引物池合成时芯片的批次间一致性，有力地保证了实验的可重复性。

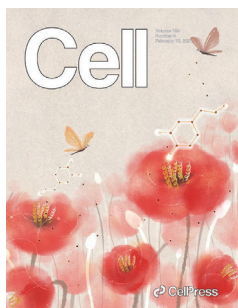


捕获效率高：同样实验条件下，基于金斯瑞引物池构建的捕获探针文库，所捕获的目的片段的reads数与捕获探针文库成品的相近，可以成功捕获到足够比例的目的片段，用于后续的扩增和上机测序。

金斯瑞引物池——文库构建专家的信赖之选

金斯瑞及其收购的CustomArray专注引物池合成技术十余年，以优质稳定的交付，获得越来越多分子生物学科学家及文库构建专家的信任和青睐，助力越来越多高影响因子的论文在国际学术的舞台上大放异彩。

采用CustomArray (金斯瑞) 引物池合成发表的优秀论文摘选：



Reference 1. Massively parallel assessment of human variants with base editor screens

利用CRISPR/Cas9胞嘧啶碱基编辑器的基因池筛选方法，用于对人类单核苷酸变异的大规模并行性评估，其中，**基于引物池合成的sgRNA文库，为研究加速。**

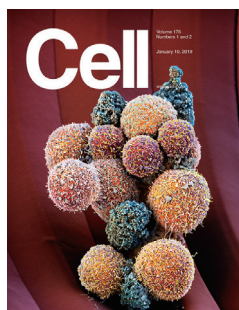
Cell, 2021. IF 38.637



Reference 2 . Genome-Scale CRISPR-Cas9 Knockout Screening in Human Cells.

基于CustomArray引物池合成的序列构建的 CRISPR-Cas9 敲除 (GeCKO) 文库，利用64,751条特异性引导序列编辑18,080个基因，成功实现后续人源细胞模型上的阳性和阴性筛选。

Science, 2014. IF 41.058



Reference 3. A Genome-wide Framework for Mapping Gene Regulation via Cellular Genetic Screens

利用CustomArray引物池合成的序列构建的sgRNA文库，可稳定的进行基因编辑，通过随机组合CRISPR/Cas9编辑的产物，随后进行单细胞的RNA测序，从而寻找和研究增强子序列。

Cell, 2019. IF 31.398

Nature Methods, 2014, Vol. 11

using standard phosphoramidite chemistries. In addition, CombiMatrix (now CustomArray) developed semiconductor-based electrochemical acid production to selectively deprotect nucleosides. Many other promising extensions and variations in microfluidic and microarray syntheses have been reported

The use of microarray-derived oligos, whereby all the oligos synthesized from an array are cleaved and harvested as one 'oligo pool', has become increasingly popular as a cheap source of designed oligos. The scales, lengths and error rates vary greatly between

Reference 4. Large-scale *de novo* DNA synthesis: technologies and applications.

以CustomArray半导体技术为代表的引物池合成技术，以更经济的价格，可以应用于调控元件的功能研究与编辑、蛋白编辑、基因调控网络和代谢通路研究等领域。

Nature Methods, 2014. IF 26.919

03

分子诊断引物

qPCR探针及引物合成服务.....	25
NGS引物合成服务.....	30

qPCR探针及引物合成服务

金斯瑞qPCR探针和引物稳定的质量来源于优越的研发水平、规范的生产流程和严苛的质控标准，更有生物应用科学家深度解析可能干扰qPCR诊断应用的影响因素，并在生产过程中严格控制这些因素，是您检测准确性和一致性的坚实基础。

2022年，金斯瑞引物生产部乔迁至全新独立厂房，严格执行环境清洁和污染监控，严控外源污染等干扰因素，确保下游实验顺利开展。

服务特色



ISO 9001、洁净实验室
可提供ISO 13485认证生产条件



定期监测生产环境与样品，
严控外源污染，杜绝NTC干扰



荧光染料稳定，保证阳性扩增信号
受储存时间、条件影响小

应用领域



病原体检测



肿瘤筛查



个性化用药

服务详情

类型	纯化方式*	长度 (nt)	交付内容	周期与价格
qPCR探针	HPLC+	15-30	<ul style="list-style-type: none"> · 单管或96孔板 · 干粉或溶液 · COA文件 	欢迎询价
qPCR引物	HPLC+	15-59		

*HPLC+纯化：针对分子诊断开发并优化的纯化流程，在洁净实验室完成，每条引物纯化前，色谱柱经多道特殊冲洗程序彻底清除残余，且不同引物间保持合理间隔，区分开纯化，最大程度上避免了外源污染，40个循环内，NTC无起峰。其他纯化方式请详询。

金斯瑞提供ISO 13485认证的qPCR探针和引物，供有试剂盒临床申报需求的客户选择。

欢迎咨询qPCR探针及引物合成服务，邮件发送至`oligo@genscript.com.cn`或拨打电话400-025-8686转5812或5815，专业技术支持为您服务。

qPCR探针应用的关键因素解析

金斯瑞深知常规引物的标准不足以满足qPCR诊断应用对探针质量的严格要求，哪些质量控制标准是影响qPCR实验成败的关键？拥有专业化学合成与生物应用科学家的金斯瑞研发团队为您逐一解析。

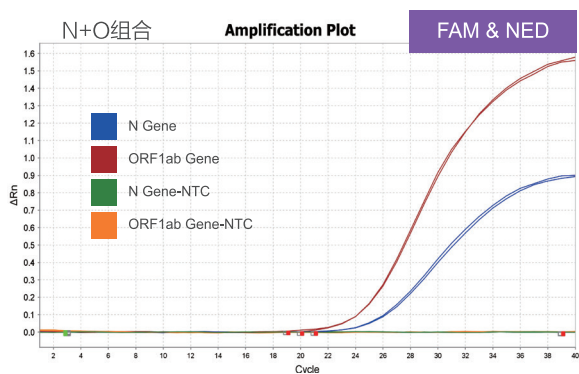
1 严控外源污染

独立厂房与洁净实验室，严控外源污染，定期监测样品与环境中新冠/E.coli/人源的外源污染等重点指标。

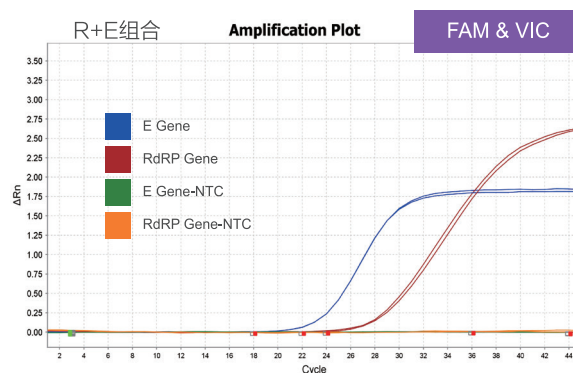
qPCR洁净生产区：45个循环，外源污染监测结果ND

Ct值	E. coli (金斯瑞HCD试剂盒)			人 (RNase P基因)			COVID (N基因)			COVID (ORF1ab基因)		
	时间1	时间2	时间3	时间1	时间2	时间3	时间1	时间2	时间3	时间1	时间2	时间3
阳性对照	27.56	27.09	27.99	18.43	18.3	18.57	22.28	22.23	21.56	20.15	20.11	19.74
空白对照1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
空白对照2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
桌面1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
桌面2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
桌面3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
货架1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
货架2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
仪器1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
仪器2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
展示柜	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
地面	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

多重PCR检测：NTC无起峰，阳性对照成功检出



样品	Ct值
ORF1ab 阳参质粒对照	24
N 阳参质粒对照	25
NTC	ND

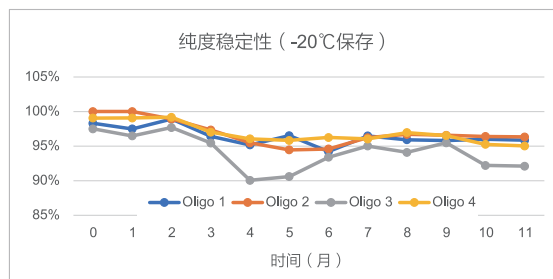
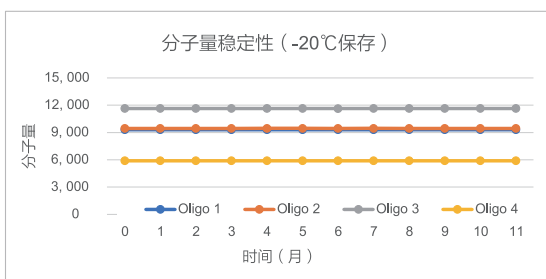
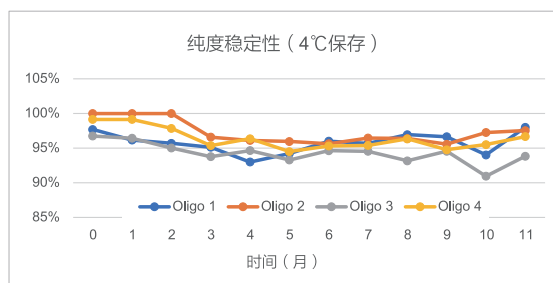
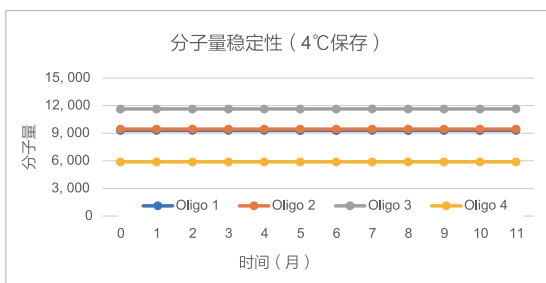


样品	Ct值
RdRP 阳参质粒对照	27
E 阳参质粒对照	23
NTC	ND

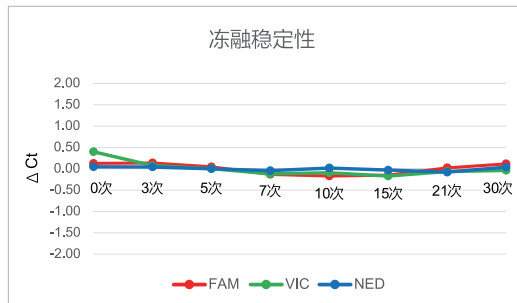
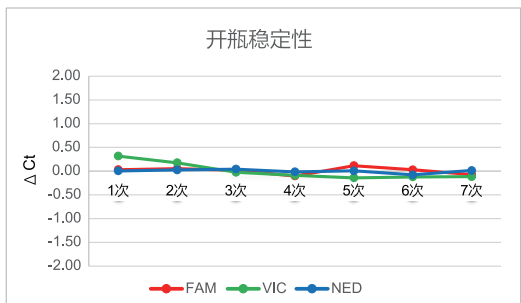
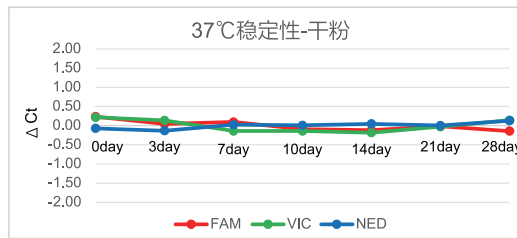
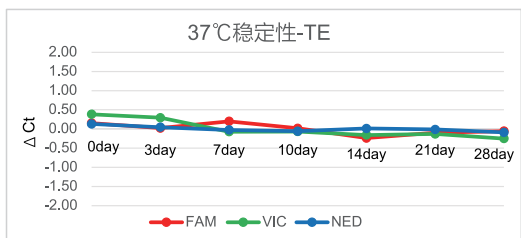
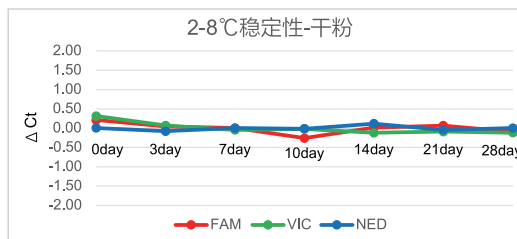
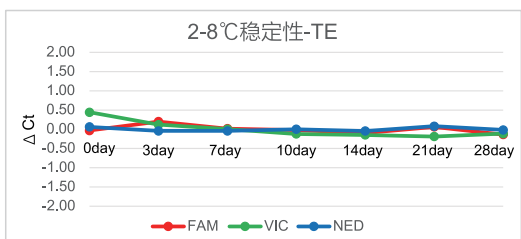
2 稳定性好

金斯瑞qPCR探针/引物分子量、纯度、Ct值稳定，受储存条件与使用频次影响较小，避免核酸原料降解变质影响实验。

核酸原料稳定：4℃与-20℃保存条件下，探针分子量和纯度变化较小

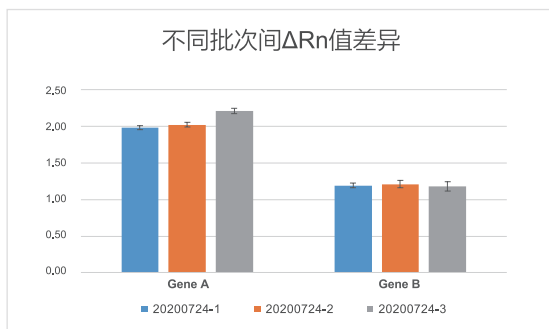
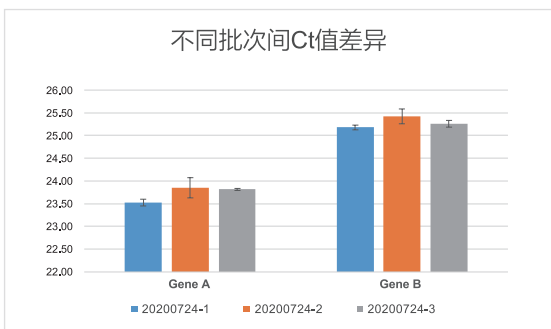


检测数值稳定：短期保存、加速实验、反复开瓶与冻融等条件下，探针检测Ct值受到的影响较小

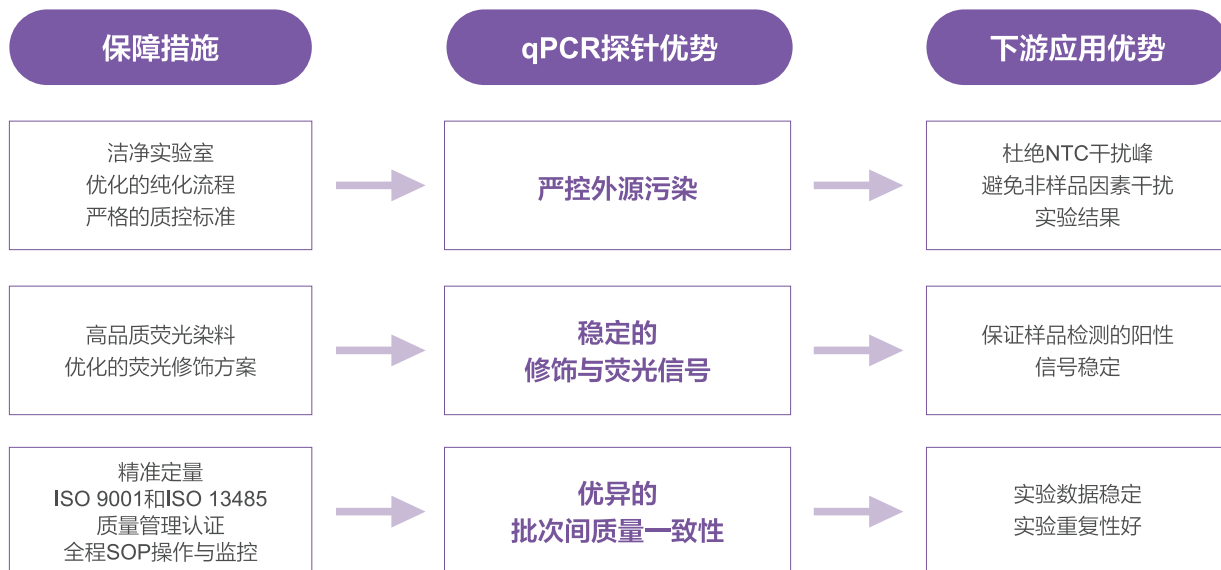


3 批次间一致性

针对不同Gene A和Gene B，不同批次间金斯瑞qPCR探针检测所得Ct值和荧光强度，无显著性差异。



金斯瑞qPCR探针优势总结



NGS引物合成服务

针对NGS建库与目标区域富集的应用，金斯瑞推出建库接头、杂交捕获探针、多重PCR引物，每一类引物都有匹配其应用的专业质控和严苛标准，为NGS技术在分子生物学研究、分子诊断等应用提供高质量的原材料。

服务优势



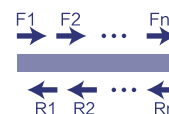
多种建库接头

交叉污染率低
避免标签与样品的错配



杂交捕获探针

修饰稳定、碱基错误率低
杜绝探针脱靶问题



多重扩增引物

定量精准均一
提高目的片段扩增效率

服务详情

类型	纯化方式	长度 (nt)	交付内容	周期与价格
建库接头	PAGE+/HPLC+ /脱盐 (RPC)	15-80	<ul style="list-style-type: none"> · 单管或96孔板 · 干粉或溶液 · COA文件 	欢迎询价
杂交捕获探针 (单条合成/芯片合成)		50-150		
多重PCR引物		15-110		

*针对分子诊断开发并优化的纯化流程：

HPLC+纯化：在洁净实验室完成，每条引物纯化前，色谱柱经多道特殊冲洗程序彻底清除残余，且不同引物间保持合理间隔，区分开纯化，最大程度上避免了外源污染，40个循环内，NTC无起峰。

PAGE+纯化：在洁净实验室完成，利用变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离目标序列，每条引物均采用独立的纯化体系和一次性耗材，最大程度避免了混入其他引物的可能。有效将交叉污染率控制到低至0.01%的水平，特别合适应用于NGS接头的纯化。

金斯瑞提供ISO 13485认证的NGS引物，供有试剂盒临床申报需求的客户选择。

欢迎咨询NGS引物合成服务，邮件发送至`oligo@genscript.com.cn`或拨打电话400-025-8686转5812或5815，专业技术支持为您服务。

接头引物合成服务

NGS文库构建时，无论是样品直接片段化，或者利用杂交捕获、多重PCR扩增等获得目的区域片段，后续都需要通过酶连法 (TA克隆连接接头) 或者转座酶法的方式为每个样品的片段添加接头。

接头序列中含有样本标签 (Index)，每个样品被片段化后，其所有片段都连接同样标签的接头，不同样品混合上机，即可通过不同标签归类不同样品的数据，并进行数据处理。

金斯瑞接头的种类

单端唯一标签:



双端唯一标签:



双端唯一标签+单端分子标签:



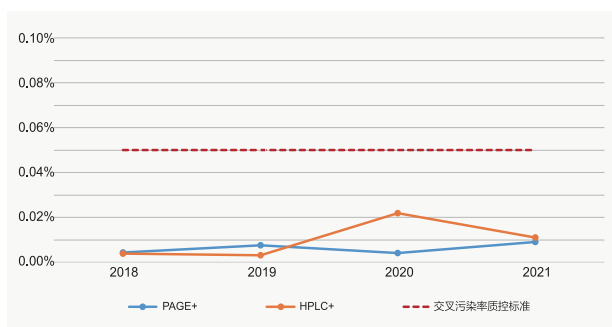
单端唯一标签: 只需i7 Index，适合基因分型检验中，对样品串扰不敏感的测序，比如遗传病等体细胞层面的突变。

双端唯一标签: 需要i7 Index 和i5 Index两个标签，适合高灵敏度检验，通过双侧检验有效降低Index错误分配，剔除样品交叉污染的干扰数据。

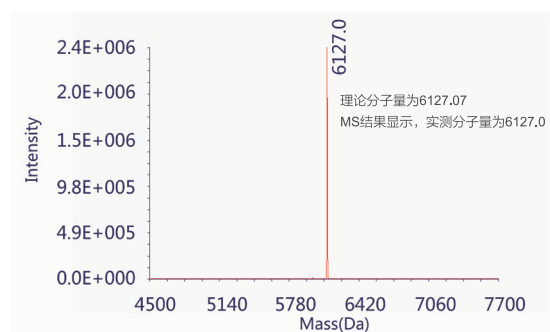
双端唯一标签+单端分子标签: 需要i7 Index 和i5 Index两个标签有效降低NGS各个阶段的错配和错误序列干扰，利用UMI区分低频突变，排除扩增中产生的错误，可以用于检测低频突变，例如液体活检。

金斯瑞的优势

交叉污染率低: 避免接头与样品的错配



碱基错误率低: 确保样品标签序列正确和后续测序数据准确



杂交捕获探针合成服务

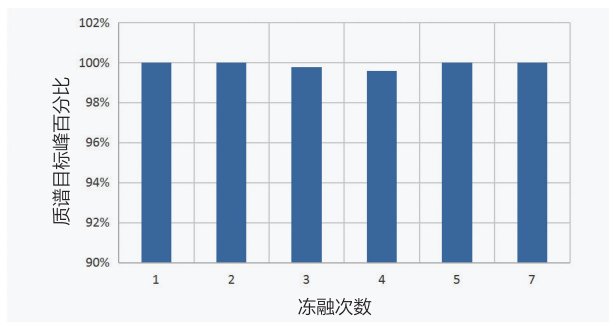
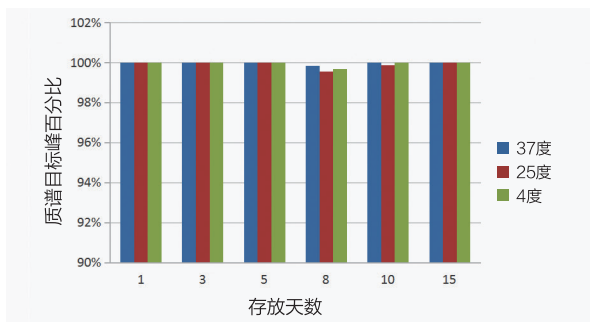
靶向捕获测序检测灵敏度高，可降低后续测序和数据分析工作量，适用于全外显子测序和目标区域测序。杂交捕获技术通过设计合成与目标区域特异性结合的探针，分离目标区域序列，是获取目标片段的主流技术之一。

金斯瑞作为同时具有单条引物合成和芯片合成平台的供应商，既能以较高的性价比为研发阶段提供覆盖率高、均一性好的芯片探针文库，也可以为生产阶段提供单条质检的单条合成探针，可以为各种目标区域捕获提供高性价比方案，涵盖从研发到生产的全流程。

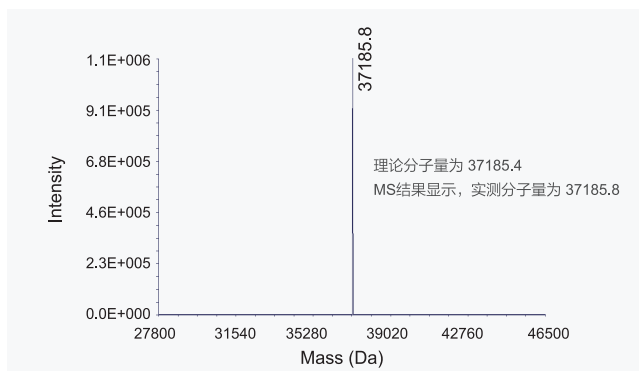
金斯瑞单条合成的杂交捕获探针，采用精准定量、全程自动化分装、可选择深度除盐工艺，确保杂交捕获探针文库的均一性好，每条引物质谱正确，通量高达10,000+条/天，高质量和高产能的生产线可为NGS杂交捕获探针文库需求提供稳定的支持。

金斯瑞的优势

修饰稳定：存放时间，温度，冻融次数对引物修饰稳定性影响非常小，更稳定



碱基错误低：保证探针与目标片段特异性结合



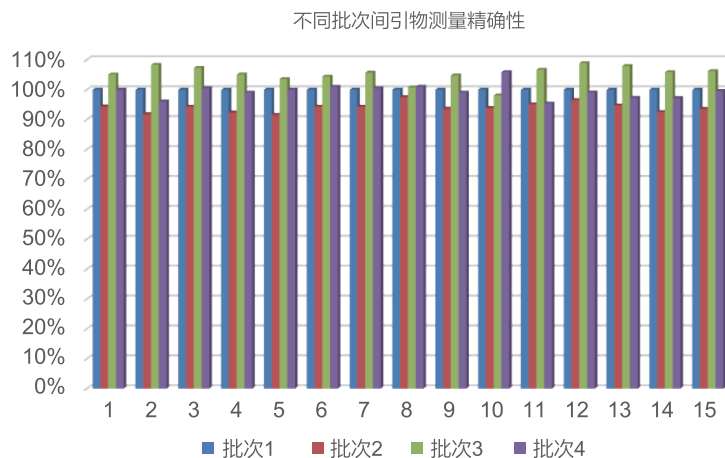
多重PCR引物合成服务

多重PCR是靶向测序中获取目标区域的技术之一，以一个样品为模板，设计多对正反引物，对多个目标序列进行扩增，从而一次获得多个目的片段。反应体系中需要同时加入多至上千对引物，需要避免相互干扰和扩增效率均一性差，因此，多重PCR引物设计难度较大。

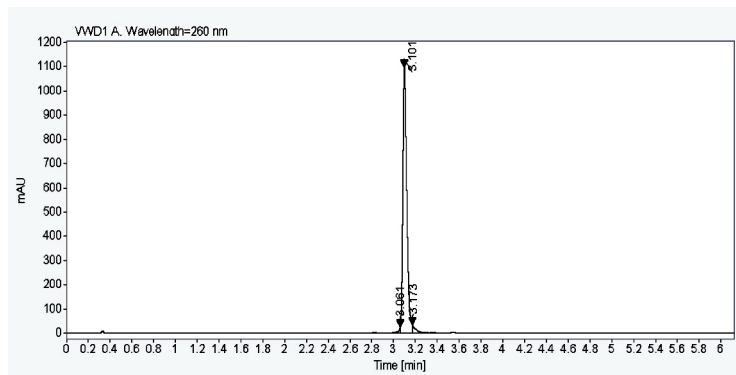
同时，需要精准定量引物，确保多重扩增体系中，每对引物浓度一致或符合理论浓度比例，避免引物浓度过高引起的扩增效率下降，或引物浓度过低引起的目的片段扩增产物过少。

金斯瑞的优势

定量精准：批次间差异小，获得的多个目的片段均一性好



纯度保证：N-X片段的比例低，扩增效率更高



NGS应用的关键因素解析

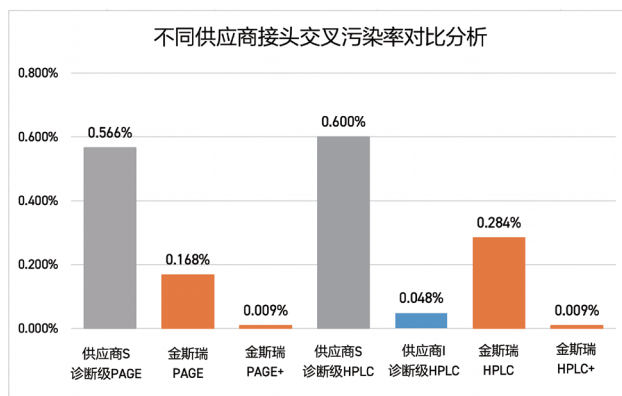
您的NGS实验是否总是无法得到理想的数据？也许是您忽视了NGS引物原料的质量标准要求远高于常规引物。金斯瑞资深科学家为您解析哪些引物的质量标准对于NGS实验结果至关重要。

1 交叉污染率

交叉污染率表征接头引物中混入其他引物的比率，接头必须严格控制交叉污染率，保证每个样品的片段都接上了专属的标签，不会因为交叉污染造成样品和接头的错配，从而导致多个样品混合上机测序时结果出错。金斯瑞NGS引物采用优化的PAGE+和HPLC+纯化，严控交叉污染率可低至0.01%。

实验对比方法：

使用Illumina TruSeq的建库试剂盒和MiSeq仪器进行NGS，检测国内外不同供应商接头的交叉污染率。



实验结果表明：

金斯瑞常规的PAGE和HPLC引物交叉污染率显著低于供应商S。

金斯瑞为分子诊断引物优化的PAGE+和HPLC+引物的交叉污染率显著低于常规PAGE和HPLC，更远低于供应商S的诊断级PAGE和HPLC。

金斯瑞的HPLC+引物的交叉污染率也显著低于供应商I的诊断级HPLC。

2 引物纯度

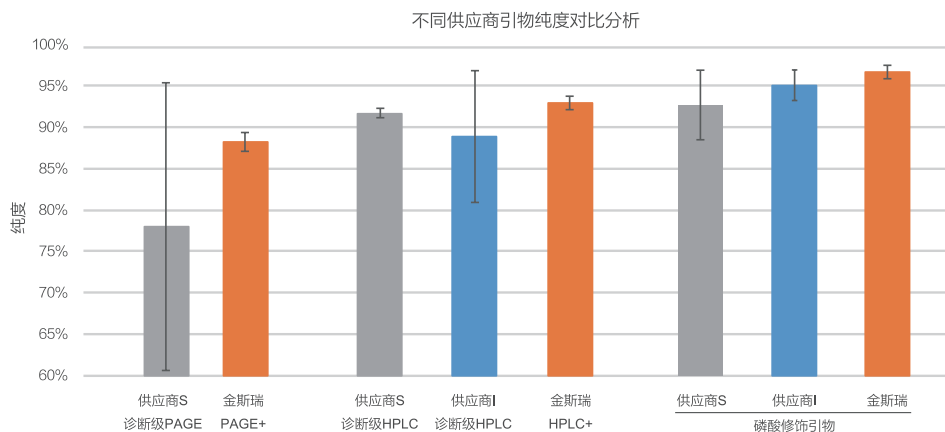
引物纯度表征引物完整序列的比例，引物纯度越高表征引物中N-X副产物的比例越低。

- 对于接头，纯度高则更高比例的完整序列接头可以与样品片段或Flow Cell结合；
- 对于杂交捕获探针，纯度高则更高比例的完整探针可以与目的片段结合，确保捕获效率；
- 对于多重PCR引物，纯度高有利于确保更高比例的完整序列引物与模板结合，保证后续扩增效率。

同时，不同引物样品间和批次间的纯度等参数的稳定性，也是保证实验间一致性的重要因素。

实验对比方法：

利用HPLC检测国内外不同供应商的引物、磷酸化引物的纯度。

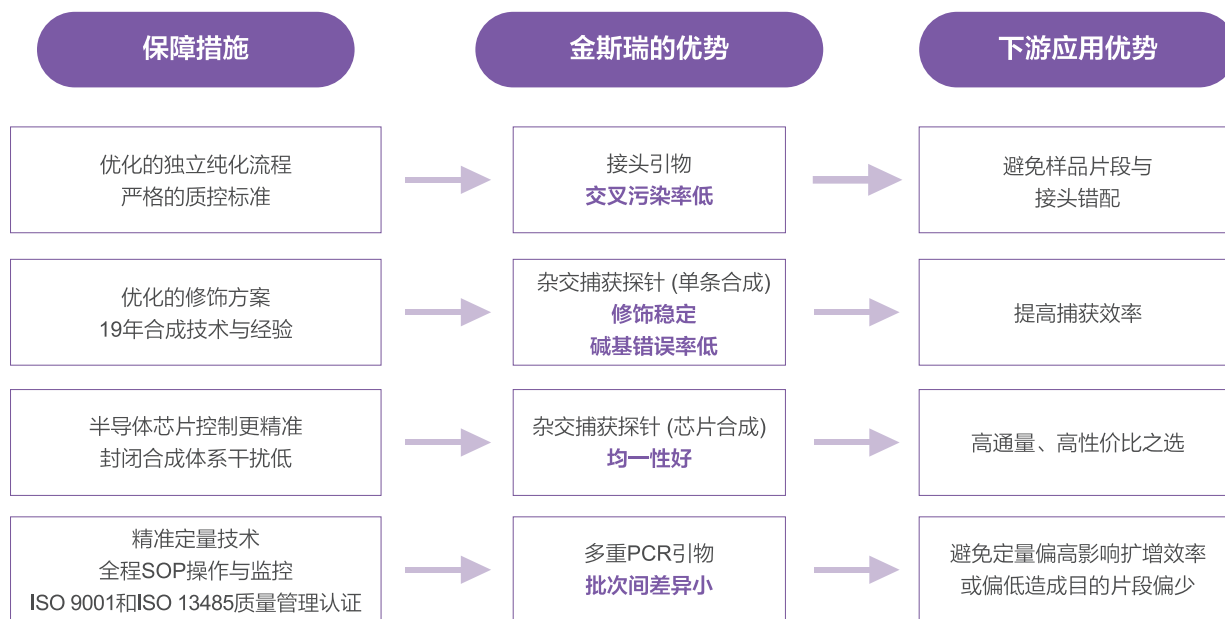


实验结果表明：

金斯瑞PAGE+引物、HPLC+引物及磷酸修饰引物的纯度均高于供应商S和供应商I。

金斯瑞引物样品间纯度差异显著低于供应商S和供应商I，提示批次间差异小，有利于实验间的可重复性和分子诊断产品批次间的一致性。

金斯瑞NGS引物优势总结



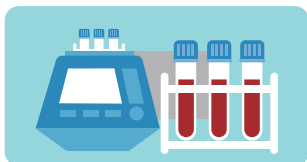
04

引物资源中心

生物信息学工具.....	37
常见问题.....	38
客户发表文献.....	43

生物信息学工具

引物设计工具



PCR引物设计工具

输入序列即可，提供Basic、Standard、Advanced三种模式，满足客户对不同参数的要求



Real-time PCR (TaqMan) Primer设计工具

根据您的待检测目的序列和参数要求，快速完成TaqMan探针和引物的设计



引物参数评估工具

根据引物或修饰引物序列提供熔解温度(T_m)、GC含量、分子量、摩尔消光系数($OD/\mu\text{mol}$, $\mu\text{g}/OD$)

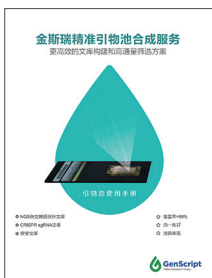
技术资料

金斯瑞科学家总结技术原理、应用案例和实验注意事项，形成专业的技术手册，登录官网可以免费下载和浏览，助力科研工作者更高效的推进项目。



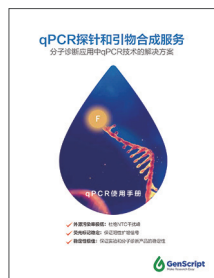
引物业务手册

引物/RNA/引物池/大规模寡核苷酸合成
NGS引物/qPCR探针合成



引物池手册

高通量引物合成技术让文库构建和筛选更简单!



qPCR技术手册

qPCR技术与应用
实验关键因素解析



NGS技术手册

NGS技术、应用、案例
一站式解决方案



金斯瑞提供引物设计软件、技术手册、在线讲座等资源，欢迎扫码访问或登陆<https://www.genscript.com.cn/oligo-technical-resources.html>访问金斯瑞引物资源中心

常见问题



常规引物篇

Q: 引物设计的基本原则是什么?

A: 引物设计的下列原则供您参考:

- 1) 引物最好在模板cDNA的保守区内设计。
- 2) 引物长度一般在15-30碱基之间。
- 3) 引物GC含量在40%-60%之间, Tm值最好接近72℃。
- 4) 引物3'端要避开密码子的第3位。
- 5) 引物3'端不能选择A, 最好选择T。
- 6) 碱基要随机分布。
- 7) 引物自身及引物之间不应存在互补序列。
- 8) 引物5'端和中间 ΔG 值应该相对较高, 而3'端 ΔG 值较低。
- 9) 引物的5'端可以修饰, 而3'端不可修饰。
- 10) 扩增产物的单链不能形成二级结构。
- 11) 引物应具有特异性。

常用的软件有Oligo 6和Primer Premier 5.0。欢迎登陆金斯瑞官网"引物资源中心"使用我们的引物设计工具。

Q: 如何保存引物?

A: 引物合成后, 经过一系列处理和纯化步骤, 旋转干燥而成片状物质。没有溶解的引物非常稳定, -20℃下可保存2-3年, 甚至更长。溶解后的引物-20℃下避免反复冻融, 可以保存至少半年以上。

如果对实验的重复性要求较高, 合成的OD值较大或单条引物合成量较大的, 建议将溶解好的引物事先稀释为100 μ M的储存液, 分装数份保存于-20℃冰箱。使用前, 将浓溶液稀释成工作液(10-20 μ M)后进行实验。

荧光修饰引物需要避光保存。

Q: 引物在常温下运输, 会降解吗?

A: 不会降解, 冻干的引物在常温至少可以稳定存放2周以上。而一般的运输时间通常都在1-3天, 所以您收到的引物不会降解。

Q: 如何溶解引物?

A: 干燥后的引物质地非常疏松, 开启瓶盖溶解之前最好在3,000-4,000转/分钟的转速下离心1分钟, 或管垂直向上在桌面上轻敲几次, 将引物粉末收集到管底, 防止开盖时引物散失。

根据计算出的体积加入去离子无菌水或10 mM Tris pH7.5缓冲液, 室温放置几分钟, 上下混匀振荡, 离心将溶液收集到管底。溶解引物用的水一般不要用蒸馏水, 因为有些蒸馏水的pH值比较低(pH4-5), 引物在这种条件下不稳定。

我们的合成报告单给出了每管引物稀释为100 μ M (即100 pmol/ μ l) 浓度的加水量, 您可以根据您的实验需要加入适量的无核酸酶的双蒸水(pH>6.0)或TE缓冲液(pH7.5-8.0)。

Q: 已经溶解的引物, 为什么原先使用正常, 而过一段时间再使用就不好了?

A: 如果您溶解引物的水pH过低或污染了菌或核酸酶, 会使引物降解。使用时没有充分解冻混合, 液体不均匀也可能造成引物加入量不准确。建议分装引物, 避免反复冻融, 并使用10 mM Tris pH7.5缓冲液溶解引物。还有一种可能性是引物没有问题, 而是PCR使用材料特别是模板的质量与先前使用的不完全一致。

qPCR引物篇

Q: TaqMan 探针设计的基本原则是什么？

A: 下列原则可供您参考：

- 1) TaqMan 探针位置尽可能靠近扩增引物（扩增产物50-150 bp），但不能与引物重叠。
- 2) 长度一般为18-40 mer。
- 3) G-C含量控制在40-80%左右。
- 4) 避免连续相同碱基的出现，特别是要避免GGGG或更多G出现。
- 5) 在引物的5'端避免使用G。
- 6) 选用比较多的碱基C。
- 7) 退火温度 T_m 控制在 68-70℃左右。

我司设计工具：<https://www.genscript.com/tools/real-time-pcr-taqman-primer-design-tool>

Q: 常见荧光光谱和淬灭基团的选择

A: 依据qPCR仪器型号选择，qPCR仪器说明中会有推荐的荧光基团情况。在探针层面，确保淬灭基团能够高效地吸收报告基团的放射波长，当进行多重试验时，每个染料的激发波长和发射波长能够区分，避免交叉影响。常见荧光光谱及淬灭基团见下图，供参考：

荧光基团	Excitation Max [nm]	Emission Max [nm]	淬灭基团	淬灭范围
6-FAM	494	518	BHQ-1 / TAMRA	BHQ-1 480-580 nm TAMRA 520-600 nm
6-JOE	520	548	BHQ-1 / TAMRA	
6-TET	521	542	BHQ-1 / TAMRA	
6-HEX	533	559	BHQ-1 / TAMRA	
6-VIC	538	554	BHQ-1	
NED	546	575	BHQ-2	BHQ-2 559-670 nm
Quasar 570	548	567	BHQ-2	
CY3	555	570	BHQ-2	
6-TAMRA	559	583	BHQ-2	
6-ROX	588	608	BHQ-2	
Texas red-X	598	617	BHQ-2	
CY5	646	662	BHQ-2	
Quasar 670	647	666	BHQ-2	
CY5.5	684	710	BHQ-3	

Q: 淬灭基团为TAMRA、Eclipse或BHQ系列染料的双标记荧光探针在使用上有什么不同?

A: 由淬灭基团TAMRA、Eclipse或BHQ系列染料组成的双标记荧光探针常常被用作水解探针 (Hydrolysis Probes), 或称TaqMan探针, 用于实时荧光定量PCR实验。

1) TAMRA为荧光染料, 在淬灭报告基团的同时, 会在更高波长处发射荧光。而Eclipse及BHQ系列为非荧光染料, 淬灭报告基团时, 自身不发射荧光, 探针荧光本底比TAMRA低, 检测灵敏度更高。

2) TAMRA的吸收光谱覆盖范围窄, 可与之匹配的报告基团种类比较少; 而Eclipse则具有更宽的吸收范围 (390 nm-625 nm), 可淬灭的报告基团种类很多, 如FAM、HEX、TAMRA、ROX等均可; 组合使用的BHQ系列染料的吸收光谱覆盖范围则更广, 从430 nm一直到近红外, 可淬灭的报告基团种类更多, 包括Cy3、Cy5等。因此可由Eclipse或BHQ系列染料组成一套双标记荧光探针用于多重PCR。

Q: Taqman法的qPCR体系及程序参考设置

A: Taqman法qPCR体系

组分	体积(μL)
Master Mix	10
无核酸酶水	8
模板样品(1 pg/μL)	1
正/反向引物(10 μM)	0.4
探针(10 μM)	0.2
每个反应的总体积	20

Taqman法qPCR程序

温度	时间	循环数
37	2 min	/
95	5 min	/
95	15 s	45X
60	30 s	

Q: 合成的荧光标记探针应如何保存?

A: 荧光探针保存方法如下:

- 1) 荧光探针必须避光保存。
- 2) 干品可于-80℃保存一年以上, 如无条件, 请于-20℃保存。
- 3) 强烈建议用RNase-free的TE (pH8.0) buffer溶解探针, 这样得到的探针溶液更稳定, 保存时间更长。通常, 将探针配制成100 μM的储备液, 分装成几份 (每份最多反复冻融5次), 于-20℃保存。使用前, 将配制好的储备液稀释成工作液 (10 μM或20 μM), 剩余部分于-20℃保存。

NGS引物篇

Q: 如何规范NGS样本处理?

A: 样本处理是否规范直接影响NGS的检测结果, 因此, 对样本制备的质量控制不容忽视, 《肿瘤个体化治疗检测技术指南(试行)》建议如下。

- 1) 手术和活检组织:** 样本采用10%中性福尔马林固定, 按病理学操作规范进行取材; 活检标本固定24小时, 穿刺样本固定时间控制在6-24小时为佳; 样本经1周以上的长时间浸泡后部分DNA会被片段化, 并不能检出突变, 对诊断结果产生影响。
- 2) 组织切片:** 建议切取5张连续切片, 其中1片进行HE染色, 确认肿瘤细胞的含量。过低的肿瘤组织含量会直接影响肿瘤基因突变丰度, 造成假阴性, 因此, 每张切片肿瘤组织的含量至少在70%以上。
- 3) 穿刺石蜡标本:** 1-2张石蜡切片(2 ng DNA)即可满足测序需要, 不同检测方法DNA样本起始量不同, 目前随着建库产品的不断优化, 建库样品投入量要求也在不断降低。
- 4) 针对血浆样本:** 采集外周血提取循环DNA(cfDNA)进行检测, 取样使用一次性密闭EDTA抗凝真空采血管, 采集6-10 mL全血, 冷藏运输, 6小时内分离血浆, 提取游离DNA, 保存到-80℃冰箱中, 并避免反复冻融。如外周血需长时间运输, 建议用商品化的游离DNA样本保存管, 在常温条件下, cfDNA在全血中可稳定保存7天。
- 5) 针对样品质控:**

肿瘤细胞的百分比: 检测前需进行常规病理检查和诊断(H&E染色), 确定肿瘤细胞百分比, 必要时应采取富集肿瘤细胞的方法, 如手工刮取或显微切割法。选取以肿瘤细胞为主的、没有明显的坏死、黏液和炎性改变的组织进行检测, 以免产生假阴性结果。理想情况下, 石蜡样本中肿瘤细胞的比例不低于50%, 新鲜样本不低于25%, 对于ARMS等敏感性较高的方法, 肿瘤细胞的含量和比例可以低一些, 具体视所采用的DNA提取方法和突变检测方法的敏感度等而定。

核酸纯度: 可通过提取物OD260 / OD280比率判定, DNA的比值为1.8, RNA的比值为2.0。若DNA比值高于1.8, 说明制剂中RNA尚未除尽。RNA、DNA溶液中含有酚和蛋白质将导致比值降低。

Q: 如何选择建库方案?

A: 酶连法建库模式: 涵盖超声片段化后的末端修复、平末端加A尾、加接头和扩增3个步骤, 对DNA的质量要求较低, 基因组覆盖度高, 适合普通基因组建库。

优点: 性价比高, 序列偏好性小、应用广。

局限: 片段损伤, 操作步骤较多, 耗时约2.5h。

转座酶法建库模式: 涵盖转座酶片段打断、PCR加接头并扩增2个步骤, 建库方法操作简单, 适合处理大量样品, 建库起始量低, 片段损伤低, 适合样品量有限的样品建库。

优点: 操作步骤较少、耗时约1.5 h。

局限: 转座酶打断时有序列偏好性。

Q: 如何选择目标区域富集方案?

A: 杂交捕获技术: 根据DNA碱基互补配对原理, 设计与目标区域特异性互补的探针捕获目的片段, 通过洗脱去除其余片段、通过扩增富集目的片段, 后续即可直接进行NGS。杂交捕获技术可以一次性捕获更大的目标区域, 从Mb大小的区域到外显子组, 可检测SNV, InDel, CNV, SV, 基因融合等变异。

优点: 捕获区段大, 均一性好, 肿瘤组织中, 结构变异非常大, 杂交捕获可以检测到已知基因的未知突变位点及较大区域的插入/缺失和基因融合现象。

局限: 特异性差, 因为样本是随机打断, 杂交捕获的片段可能一部分为目标区域, 一部分为非目标区域, 无法做到100%的中靶。特殊区域如GC过高, 串联重复区域等探针特异性难以优化, 杂交时间长。

多重PCR扩增: 设计多对上下游引物, 一次性从样品模板上扩增出多个目的片段, 再进行文库构建和NGS。更适合小型的目标区域和点突变, 检测几十到几千个位点, 或500 Kb以下的区域, 受背景基因组影响较小。超多重PCR对于微量DNA信号的特异性放大能力在cfDNA检测及MRD的鉴定等领域具有更高的灵敏度。

优点: 模板起始量低, 引物原料成本低, 操作简单, 时间短。

局限: 引物设计有难度, 需保证扩增的特异性, 避免引物二聚体等。对于一些未知的结构检测有一定局限性, 引物区假如发生SNP会导致该amplicon丢失等, 扩增区域数量有限。

Q: 如何提升杂交捕获效率?

A: 1. 应用封闭非特异性序列: 需要利用Cot-1序列封闭基因组DNA中天然存在的不同程度的重复序列 (HRD), 利用封阻引物封闭样品片段的接头序列, 避免捕获探针与这两个区域的序列之间杂交引起的非特异性捕获, 提高捕获效率和后续的测序数据质量。

2. 校准实验仪器的温度: 在NGS杂交洗脱操作中即使温度发生了轻微改变, 如 $\pm 2^{\circ}\text{C}$, 都可能会对Flanking区域的中靶率以及GC偏好性 (GC bias) 产生影响。略高的洗脱温度, 会导致对AT区域捕获的损失; 略低的洗脱温度, 会导致非特异性捕获增加, 中靶率下降。

3. 避免过度扩增: 捕获后扩增, 建议依据杂交时间、混杂数目选择相应的扩增循环数, 避免过度扩增。获得符合上机要求的产量文库时, 使用的PCR循环数越少, 则非特异性扩增越少, 建库效率越高。

客户发表文献

金斯瑞提供的服务和产品已被Cell、Science、PNAS等多家国际著名学术期刊引用。多家全球著名机构使用金斯瑞的引物合成服务和产品发表科研成果，再次证明金斯瑞有能力帮助业内科学家Make Research Easy。

以下是选取的部分科研文章

题目：Gibbin mesodermal regulation patterns epithelial development

期刊: *Nature* IF 43.07

Doi: 10.1038/s41586-022-04727-9

题目：Post-translational control of beige fat biogenesis by PRDM16 stabilization

期刊: *Nature* IF 43.07

Doi: 10.1038/s41586-022-05067-4

题目：Genomic insights into the recent chromosome reduction of autopolyploid sugarcane *Saccharum spontaneum*

期刊: *Nat Genet* IF 27.959

Doi: 10.1038/s41588-022-01084-1

题目：Inhibition of the CtBP complex and FBXO11 enhances MHC class II expression and anti-cancer immune responses

期刊: *Cancer Cell* IF 27.407

Doi: 10.1016/j.ccell.2022.09.007

题目：Sox2 levels regulate the chromatin occupancy of WNT mediators in epiblast progenitors responsible for vertebrate body formation

期刊: *Nat Cell Biol* IF 17.728

Doi: 10.1038/s41556-022-00910-2

题目：Automated model-predictive design of synthetic promoters to control transcriptional profiles in bacteria

期刊: *Nat Commun* IF 12.124

Doi: 10.1038/s41467-022-32829-5

题目：Accounting for small variations in the tracrRNA sequence improves sgRNA activity predictions for CRISPR screening

期刊: *Nat Commun* IF 12.124

Doi: 10.1038/s41467-022-33024-2

题目：A nucleotide-sensing oligomerization mechanism that controls NrdR-dependent transcription of ribonucleotide reductases

期刊: *Nat Commun* IF 12.124

Doi: 10.1038/s41467-022-30328-1

题目： TraB family proteins are components of ER-mitochondrial contact sites and regulate ER-mitochondrial interactions and mitophagy

期刊： *Nat Commun* IF 12.124

Doi: 10.1038/s41467-022-33402-w

题目： A dual mechanism of action of AT-527 against SARS-CoV-2 polymerase

期刊： *Nat Commun* IF 12.124

Doi: 10.1038/s41467-022-28113-1

题目： N-terminal signal peptides facilitate the engineering of PVC complex as a potent protein delivery system

期刊： *Sci Adv* IF 11.511

Doi: 10.1126/sciadv.abm2343

题目： Screening circular RNAs with functional potential using the RfxCas13d/BSJ-gRNA system

期刊： *Nat Protoc* IF 11.334

Doi: 10.1038/s41596-022-00715-5

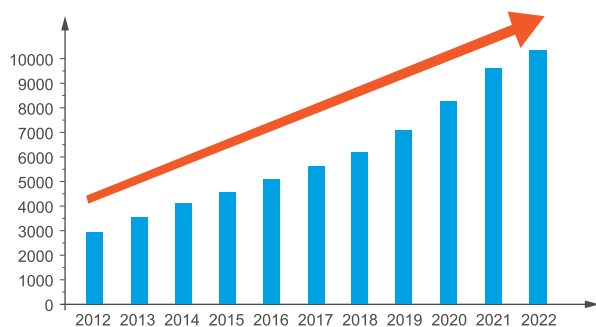
题目： Inhibition of histone acetyltransferase GCN5 by a transcription factor FgPacC controls fungal adaption to host-derived iron stress

期刊： *Nucleic Acids Res* IF 10.162

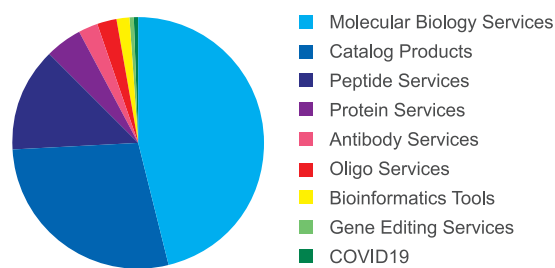
Doi: 10.1093/nar/gkac498

金斯瑞的服务及产品已被*Cell*、*nature*、*Science*、*PNAS*等多家生物医药类杂志引用。

请浏览客户发表文献：https://www.genscript.com.cn/reference_peer-reviewed_literature.html。



金斯瑞2012-2022历年文献数



金斯瑞产品和服务在文献中的比例分布

金斯瑞的成长离不开广大客户的支持，论文及学术成果发表让金斯瑞的价值得到充分体现。为感谢广大客户一直以来对金斯瑞的厚爱，更为了感谢一线科研工作者们为全人类生命科学进步所做出的贡献，金斯瑞特别开展金斯瑞发文章有奖活动。



扫码了解更多

05

订购指南及联系方式

订购方式.....	46
订单查询.....	47

订单查询

如何查询？

- 1.登录您的金斯瑞账户
- 2.点击账户名-用户中心
- 3.在页面左边任务栏里点击“我的订单/询单”
- 4.订单类型选择“引物合成”服务
- 5.点击订单编号，进入“订单详情”页面查看订单进度。

对于延期和困难订单，欢迎来邮件咨询和确认，我们会在第一时间进行回复跟进。

登录金斯瑞官网



用户中心



我的订单/询单



选择服务



点击订单编号

如何下载报告？

- HPLC / CGE / MS提供电子报告（仅针对选择需要该项报告，或默认提供该项报告的订单），COA报告提供电子版和纸质报告（100条及以上仅提供电子版报告）
- 电子版报告可在官网“[用户中心-我的订单/询单](#)”列表中点击“[发票&文件](#)”栏的“↓”下载

微信查单

关注[金斯瑞生物科技](#)官方微信服务号，进入个人中心，点击“我的订单”，查看订单进度。

金斯瑞始终以客户的需求为己任，致力于让先进技术真正走进千千万万的实验室。

更多详情，欢迎访问

🌐 www.genscript.com.cn

☎ 400-025-8686-5812/5815

✉ oligo@genscript.com.cn

📍 江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号



更多新闻活动
欢迎关注“**金斯瑞试剂服务**”