

TargetSeq®

杂交捕获测序技术及产品定制



公司简介

COMPANY PROFILE

艾吉泰康是一家专注于靶基因“读”和“写”技术解决方案开发与供应的中国高新技术企业，拥有具备自主核心知识产权的 NGS 探针杂交、多重 PCR、高通量 DNA 合成三大底层技术平台。艾吉泰康已通过 ISO 13485 和 ISO 9001 等多项合规化生产质量管理体系认证，配套约 2500 m² 的 GMP 生产车间和检验实验室，为医疗健康、农业、微生物、学术研究等领域提供基因捕获产品的定制开发、NGS IVD 产品的 CDMO 服务、靶向测序实验室解决方案供应、NGS 测序速检服务及大规模 DNA 合成服务。

艾吉泰康致力于成为基因检测企业、医院精准医学中心、科研机构、合成生物学企业及药物研发机构的优秀合作伙伴，打造领先的基因行业新引擎。艾吉泰康已为中国近千家客户提供了上百种预制化的基因捕获产品和高性能试剂组分、超过 1500 种高标准个性化定制的基因捕获产品，并为数十个 NGS IVD 在途或在报产品提供了核心原材料。

目 录

CONTENTS

个性化定制捕获试剂盒	02
TargetSeq® 杂交捕获测序技术	03
TargetSeq® 杂交捕获测序定制产品特点和优势	04
TargetSeq® 探针设计理念	04
TargetSeq One® 杂交捕获体系	06
TargetSeq® Panel 数据表现	06
靶向捕获解决方案	08
快速建库试剂盒 v2.0, 有效提高分子回收效率	09
通用型酶切建库试剂盒, 自动化建库的首选	11
Illumina/MGI 平台 UDI, 有效避免 Index 串扰	13
Illumina/MGI 平台 UMI, 助力低频突变检测	14
通用型接头封阻序列, 封阻效果表现优异	15
生产平台介绍	16
生产平台介绍	16
累计的项目经验	16
标准的质控流程	16
服务流程	17
定制周期	17
定制流程	17
CDMO 服务	17
技术支持和售后服务	17
案例分享	18
肿瘤方向应用	18
免疫方向应用	19
微生物方向应用	19
大健康方向应用	19
TargetSeq® 客户文章精选	20
附录 TargetSeq® 预定义目标区域探针	21

个性化定制捕获试剂盒

产品介绍

艾吉泰康基于自主知识产权的 TargetSeq® 杂交捕获测序技术、MultipSeq® 多重扩增子测序技术、BisCap® 甲基化捕获测序技术和 AnchorSeq 锚定多重扩增子测序技术，可为生物医药公司、临检所、各级高校、医院、研究所等客户提供个性化定制捕获测序方案。艾吉泰康可提供 Panel 设计、探针 / 引物合成、定制试剂盒性能测试、完整的配套试剂盒、定制捕获产品测序服务等的一站式解决方案。

截止到 2022 年 6 月，艾吉泰康定制开发的杂交捕获测序 Panel 达到 800+，定制开发的多重扩增子测序 Panel 达到 600+，定制开发的甲基化捕获测序 Panel 达到 50+。同时，艾吉泰康是国内首款全外显子测序试剂盒的开发者，并参与制定国家标准《目标基因区域捕获质量评价通则（GB/T 37872-2019）》。

未来，艾吉泰康将继续秉承诚信、高效、包容、担当的企业精神，精益求精，思行创新，为客户提供专业可靠，高性价比的基因捕获测序定制产品和服务。

产品应用



TargetSeq® 杂交捕获测序技术

技术介绍

艾吉泰康 TargetSeq® 杂交捕获测序技术是利用探针杂交的方式捕获目标区域，以检测肿瘤、遗传相关的变异信息。

TargetSeq® 基于多因素算法采用“叠瓦式”的探针设计方案，对目标区域进行多层探针设计。探针使用生物素标记的 NTP 和核酸类似物作为合成原料，制备出的特异性探针能够与目标基因组文库进行液相杂交，杂交完成后使用链霉亲和素磁珠来结合探针及目标区域文库的杂交产物。将捕获得到的目标区域文库富集后，使用 Illumina、MGI 等二代测序平台进行高通量测序，可检测目标区域的 SNV、InDel、CNV、SV、Fusion 等变异，同时还可应用于外源病毒及病毒整合位点的检测。

优势和特点

设计理念先进

基于热力学稳定性的探针设计；针对难捕获区域特殊设计，有效覆盖度更高

项目开发经验丰富

目前已完成 800 多款 TargetSeq® 定制 Panel 的开发，涉及肿瘤检测、用药评估、遗传筛查、分子育种、动植物进化等各个方向

检测范围广

可检测 SNV、InDel、CNV、STR、Fusion、Pathogen 等多种变异类型；同时，可按照变异类型设计探针，兼顾 Panel 指标和关键变异的检出率

灵活的产品定义

目标区域大小 1 kb ~ 100 Mb，具有扩展性，可根据需求进行区域增加和优化

数据表现优异

数据产出均一，覆盖度、捕获效率及均一度指标均表现优异；不同批次合成探针可重现高

检测结果准确

常规建库可检测 1% 以上的突变，重复性好；结合 UMI，可检测低频突变 (0.01%)

03

技术路线

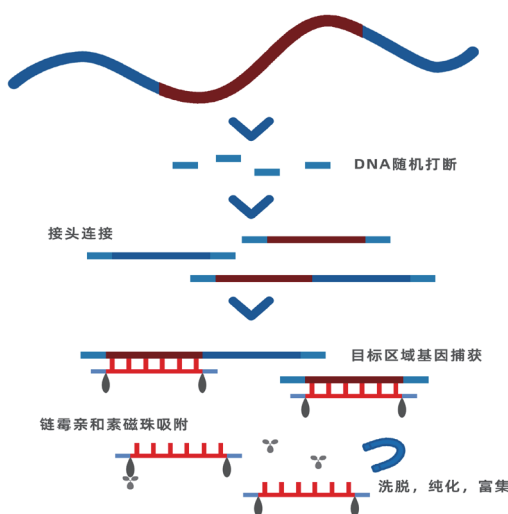


图 1. 艾吉泰康杂交捕获测序技术路线

TargetSeq® 杂交捕获测序定制产品特点 and 优势

TargetSeq® 探针设计理念

基于热力学稳定性进行 3X 叠瓦式设计，目标区域覆盖度更好

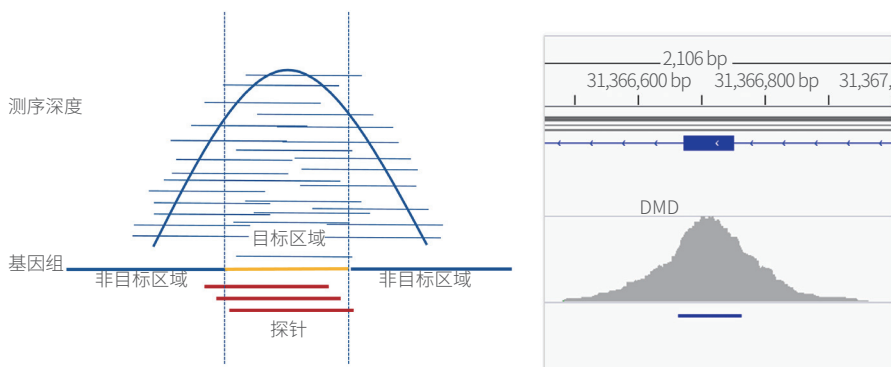


图 2. TargetSeq® 3X 叠瓦式设计示意图和实测覆盖情况示例

可针对基因组补丁序列补充探针，减少因个体差异引起的漏检

TargetSeq® 定制产品在探针设计时，可根据最新参考基因组 GRCh38 及 GRC 官网最新补丁序列 (Fix patches 和 Novel patches) 设计探针，可有效减少因个体差异引起的漏检。

什么是基因组补丁序列？

人类参考基因组序列来自于多个个体 DNA 序列的整合，但是由于每个个体基因组序列的不同使参考基因组不能代表所有人的基因组序列情况。同时由于技术限制等原因，被测个体并不是所有的 DNA 序列都能被测到，组装好的地方也可能存在错误，同时一个基因可能有多个单体型 (如 HLA)，新发现的单体型信息也需及时补充。因此，研究人员不定期将补丁序列 (包括 Fix patches 和 Novel patches) 加入参考基因组中，这些新加入的补丁并不会改变原有序列，如补丁版本 GRCh38.p12，这样既不会导致基因坐标的频繁改变，又提供了最新的参考基因组序列，从而使参考基因组更完善。

补丁序列也是真实的参考基因组，对于变异信息的筛选至关重要。探针设计时如果忽略补丁序列，极可能导致重要变异位点的漏检。例如，某基因在参考基因组的深度 (图 3) 明显低于在对应位置 alt 单体型上的深度 (图 4)，说明该样本在该基因上属于其它单体型。



图 3. 实测样本某基因在参考基因组上的覆盖情况

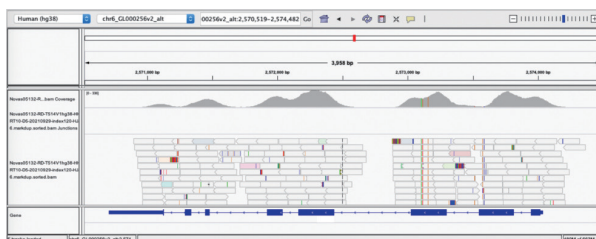


图 4. 实测样本某基因在补丁序列上的覆盖情况

针对难捕获区域特殊设计，有效覆盖度更高

TargetSeq® 定制产品可针对高 GC 区域和高重复区域进行探针优化设计，保证难捕获位置良好覆盖，提高变异检出的准确性。例如，艾全外®V3 针对重要的高 GC 区和高重复区进行特殊优化设计，提高产品的覆盖度和均一性。其中，TERT 基因启动子区域重要位点 chr5:1295113 (GRCh38) 和 chr5:1295135 (GRCh38) 的覆盖深度显著高出同类产品。

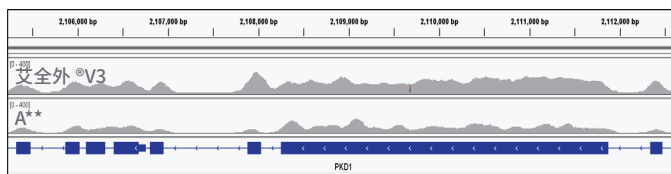


图 5. 艾全外®V3 相比同类产品在对 PKD1 基因的外显子有着更全面的覆盖

表 1. 艾全外®V3 与同类产品在 TERT 基因启动子区域及启动子侧翼区域的覆盖情况

Panel	实测样本 IGV 视图	Average sequencing depth in the target region (X)	chr5:1295113(GRCh38) sequencing depth (X)	chr5:1295135(GRCh38) sequencing depth (X)
AIExome® Human Exome Panel V3		127	141	173
A**		119	23	24

可按照突变类型设计探针，提高关键变异的检出率

针对不同的变异类型，如 InDel、STR、SV，TargetSeq® 定制产品可提供不同的探针设计方案以提高变异的检出。例如，MSI 区域在不同样本中重复数量不一致，采用两端铺放探针的方式，可显著提高目标区域的覆盖度和检出率。



图 6. MSI 探针设计思路示意图

可针对全基因组 / 目标区域进行 CNV 骨架设计，提高 CNV 的检出率

例如，艾全外®V3 遗传版在 SNP 骨架设计时，首先在全基因组范围内间隔 100 kb 筛选出东亚人群中高 MAF 的 SNP 位点，保证全基因组大片段 CNV 的检出。同时，根据 ClinGen 筛选含重要 CNV 变异的基因（如 DMD 等），这些基因内部按照间隔 10 kb 筛选 SNP 位点，并且将外显子附近 15 kb 区域 SNP 位点的密度增加至 3 kb，以实现重点区域的更高分辨率 CNV 检测。艾全外®V3 遗传版对 CNV 的检测分辨率在全基因组范围内可达 500 kb，加密区（超高密度 SNP 骨架区域）可达 50 kb；同时也可以检出部分非加密区 500 kb 以内的 CNV 变异。

表 2. 艾全外®V3 遗传版加密区 50 kb 以上和非加密区 500 kb 以上的结果统计

染色体	chr17	chr15	chr14	chr16	chr22	chr8	chr19
起始	46,111,085	30,172,500	105,740,061	35,213,828	22,037,881	39,368,817	20,415,736
终止	46,215,376	30,407,000	105,862,093	35,530,832	22,916,769	39,531,400	20,533,530
长度	104,291	234,500	122,032	317,004	878,888	162,583	117,794
变异类型	dup	del	del	dup	del	del	del
30X WGS	检出	检出	检出	检出	检出	检出	检出
Affy 750K	检出	未检出	检出	检出	检出	检出	检出
艾全外®V3 遗传版	检出	检出	检出	检出	检出	未在软件判读范围	未在软件判读范围
艾全外®V3 遗传版探针覆盖说明	加密区	加密区	非加密区	非加密区	非加密区	非加密区	非加密区

TargetSeq One® 杂交捕获体系

一管操作，实验更简便

TargetSeq One® 杂交捕获流程中仅需一管操作，操作流程更简便。首先，将 TargetSeq One® 杂交试剂及探针全部预混后直接与浓缩后的文库杂交即可，比需要两步混液的常规流程更简便；然后，在漂洗流程中，TargetSeq One® 捕获体系仅需 Wash buffer 1 和 TargetSeq One® Wash buffer 两种漂洗试剂，而常规流程通常需要四种漂洗试剂。

单杂和多杂数据表现出色

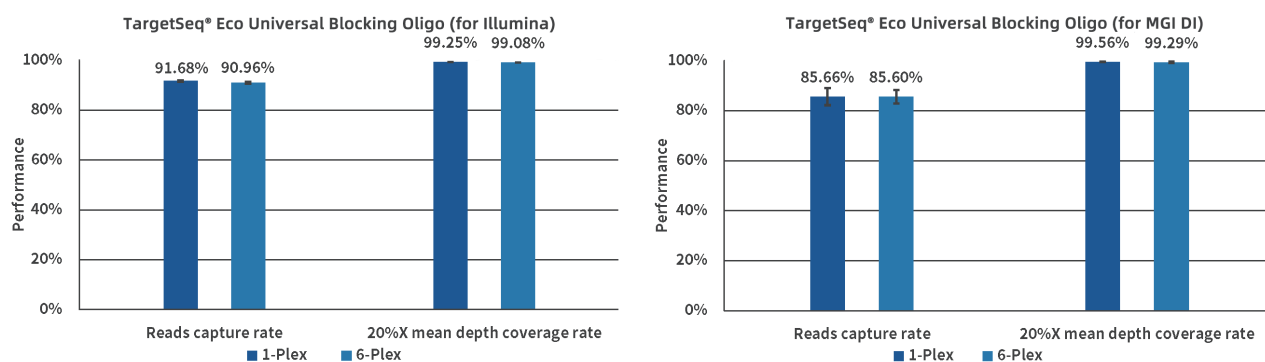


图 7. TargetSeq One® 杂交体系不同杂交方式的数据表现。采用 944 kb panel 进行捕获，捕获文库起始量为 500 ng (1-Plex) 和 3000 ng (6-Plex), A. 接头封阻序列为 TargetSeq® Eco Universal Blocking Oligo (for Illumina), NovaSeq 6000 平台 PE150 测序, B. 接头封阻序列为 TargetSeq® Eco Universal Blocking Oligo (for MGI DI), MGISEQ-2000 平台 PE150 测序。对获得的数据进行质控分析，计算目标区域捕获效率和均一性。

TargetSeq One® v2.0 -- 产品升级，均一性和稳定性更优异

2021 年 10 月，艾吉泰康针对捕获体系进行产品升级，推出 TargetSeq One® v2.0 版本，均一性和稳定性更优异。

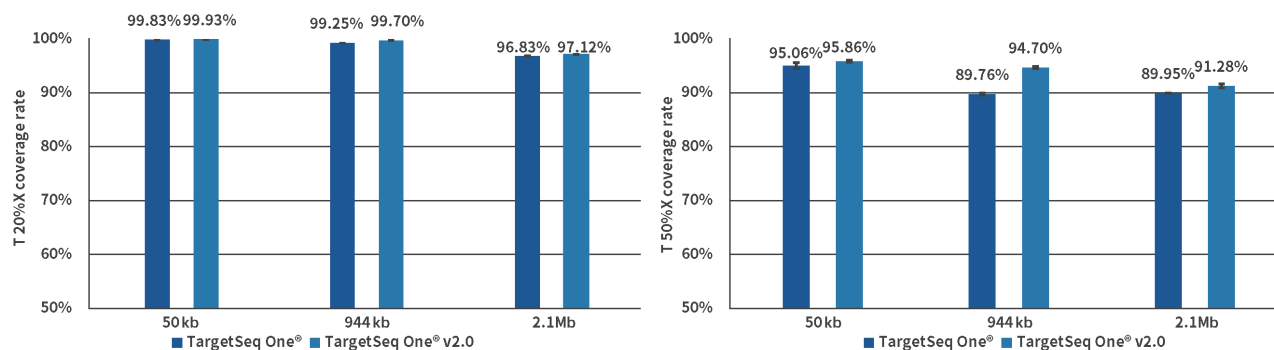


图 8. TargetSeq One® 和 TargetSeq One® v2.0 捕获体系数据对比。将基因组 DNA 样本投入 200 ng 进行建库，建库试剂盒为 Fast Library Prep Kit，超声打断，Pre 循环数为 7，将获得的文库投入 750 ng 进行后续实验，捕获体系分别为 TargetSeq One® 和 TargetSeq One® v2.0，采用不同大小的 Panel 进行捕获，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序。

TargetSeq® Panel 数据表现

TargetSeq® DNA Panel 数据表现优异

艾吉泰康专注于探针杂交捕获技术，目前已完成 700 多款 TargetSeq® DNA Panel 的开发，广泛应用于肿瘤检测、用药筛查、遗传筛查、分子育种、动植物进化等方向，不同大小、不同需求的定制探针产品数据指标均表现优异。

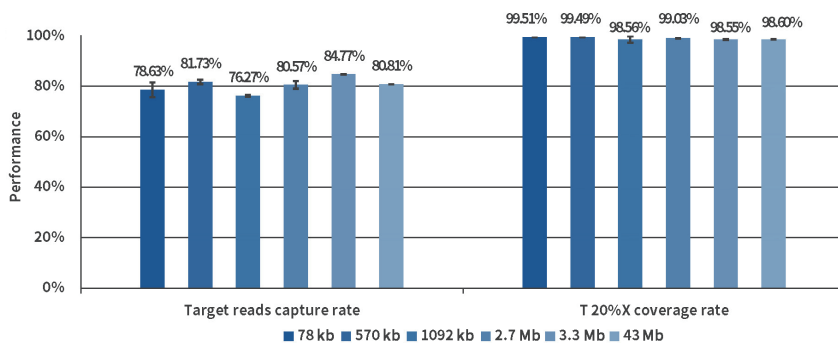


图 9. 不同探针覆盖大小的 TargetSeq® Panel 数据表现。将基因组 DNA 样本投入 200 ng 进行建库，建库试剂盒为 Fast Library Prep Kit，超声打断，Pre 循环数为 7，将获得的文库投入 750 ng 进行后续实验，采用不同大小的 Panel 进行捕获，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序。对获得的数据进行质控分析，探针覆盖区域捕获效率均高于 75%，均一性均高于 98%。

TargetSeq® RNA Panel 数据指标出色

艾吉泰康将自身的探针杂交捕获技术与转录测序技术结合，推出了 RNA 杂交捕获测序（RNA CaptureSeq）技术。该技术可在重点关注转录本上，有效解决灵敏度低和成本高的问题。通过杂交捕获感兴趣的基因，以提高目标转录本覆盖深度以及对样本转录组信息的利用率，从而能够更灵敏的检测罕见或低表达转录本。鉴于其优势，RNA CaptureSeq 已成功用于富集哺乳动物、植物、真菌、细菌和病毒的基因和转录本等方向的应用。

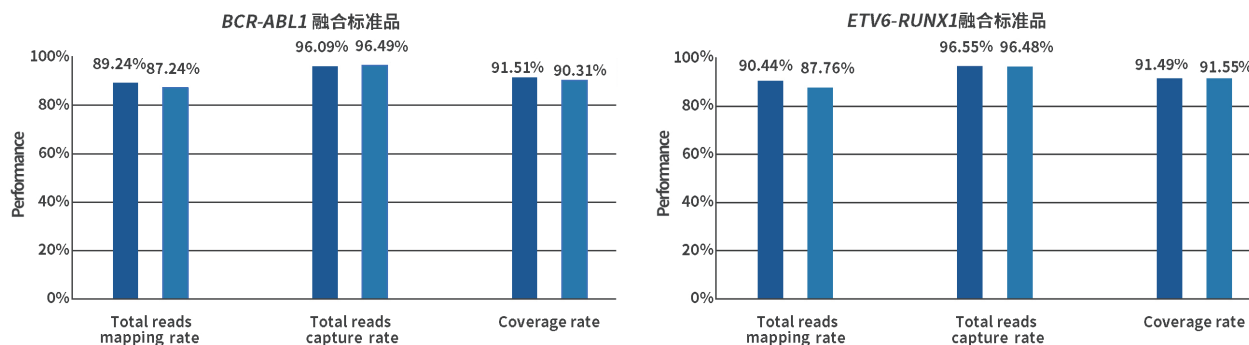


图 10. RNA 靶向测序 Panel 对 RNA 融合标准品的测试数据。投入融合基因 RNA 标准品 BCR(E14)-ABL(E2)_P210 Fusion (科佰, CBP20031R) 和 ETV6-RUNX1 Fusion (科佰, CBP20091R) 100 ng 构建文库，使用 TargetSeq®Hema Tumor Fusion RNA Panel 进行杂交捕获，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序。两例 RNA 融合标准品两次重复的数据比对率，捕获效率和覆盖度均稳定优异。

TargetSeq® Panel 突变结果检测准确

TargetSeq® Panel 常规建库可检测 1% 以上的突变，不同批次实验重复性好；结合 UMI，可检测低频突变（低至 0.01%）。将肿瘤 FFPE 标准品（GW-OPSM003，SNV 为 5%）投入 50 ng，采用超声打断，Fast Library Prep Kit 和 IGT™ Adapter & Single-Indexed Primer (for MGI) 进行建库，后续采用艾吉泰康泛癌 Panel 进行捕获，MGISEQ-2000 测序，目标区域平均深度为 308X。8 个已知突变的检出率为 100%，且检出频率与 Horizon 标准品提供的碱基突变频率基本一致。

表 3. TargetSeq® Panel 的突变检出情况示例。

Gene	Variant	Expected allelic frequency (%)	Repeat 1	Repeat 2
EGFR	L858R	5%	4.63%	3.09%
EGFR	T790M	5%	2.95%	5.12%
EGFR	ΔE746_A750	5%	4.60%	5.09%
PIK3CA	E545K	5%	10.61%	7.83%
KRAS	G12D	5%	3.65%	5.18%
KRAS	G13D	5%	4.21%	5.77%
KRAS	A146T	5%	5.71%	5.12%

靶向捕获解决方案

艾吉泰康可为研究人员提供杂交捕获流程中的建库试剂盒、UDI、UMI、探针、通用封阻序列、捕获试剂盒等试剂及自动化设备的一站式解决方案。

靶向捕获试剂产品列表

产品类别	产品名称	规格	货号
IGT™ 建库试剂盒	IGT™ Enzyme Plus Library Prep Kit	16 rxn/96 rxn	C10011/C10012
	IGT™ Fast Library Prep Kit v2.0	16 rxn/96 rxn	C10021/C10022
	IGT™ Stranded RNA Library Prep Kit v2.0	16 rxn/96 rxn	C10031/C10032
IGT™ 接头试剂盒	IGT™ Adapter & UDI Primer 1-96 (for Illumina, plate)	96*1 rxn	C10042
	IGT™ Adapter & UDI Primer 1-96 (for MGI, plate)	96*1 rxn	C10182
	IGT™ Adapter & Single-Indexed Primer 1-96 (for MGI, plate)	96*1 rxn	C10142
	IGT™ UMI Adapter & UDI Primer 1-96 (for Illumina, plate)	96*1 rxn	C10092
	IGT™ UMI Adapter & UDI Primer 1-96 (for MGI, plate)	96*1 rxn	C10232
TargetSeq® 捕获试剂盒	TargetSeq One® Hyb & Wash Kit (for Illumina)	16 rxn/96 rxn	C10601/C10602
	TargetSeq One® Hyb & Wash Kit (for MGI SI)	16 rxn/96 rxn	C10611/C10612
	TargetSeq One® Hyb & Wash Kit (for MGI DI)	16 rxn/96 rxn	C10621/C10622
	TargetSeq One® Hyb & Wash Kit v2.0 (for Illumina)	16 rxn/96 rxn	C10331/C10332
	TargetSeq One® Hyb & Wash Kit v2.0 (for MGI SI)	16 rxn/96 rxn	C10341/C10342
	TargetSeq One® Hyb & Wash Kit v2.0 (for MGI DI)	16 rxn/96 rxn	C10351/C10352
TargetSeq® 通用封阻序列	TargetSeq® Universal Blocking Oligo (for Illumina)	4 rxn/16 rxn/96 rxn	C80490/C80491/C80492
	TargetSeq® Universal Blocking Oligo (for MGI DI)	4 rxn/16 rxn/96 rxn	C80520/C80521/C80522
	TargetSeq® Eco Universal Blocking Oligo (for Illumina)	16 rxn/96 rxn	C80501/C80502
	TargetSeq® Eco Universal Blocking Oligo (for Illumina Nextera)	16 rxn/96 rxn	C80511/C80512
	TargetSeq® Eco Universal Blocking Oligo (for MGI SI)	16 rxn/96 rxn	C80541/C80542
	TargetSeq® Eco Universal Blocking Oligo (for MGI DI)	16 rxn/96 rxn	C80531/C80532

* 更多产品与规格咨询艾吉泰康技术支持



快速建库试剂盒 v2.0，有效提高分子回收效率

产品简介

IGT™ Fast Library Prep Kit v2.0 是一款适用于血浆游离 DNA (cfDNA)、FFPE 等样本的双链 DNA 通用文库构建试剂盒。该试剂盒基于 A-T 连接原理，操作流程简单，适用于 1 ~ 500 ng DNA 的全基因组测序和探针杂交捕获测序。连接相应的文库接头，可在 Illumina 或 MGI 高通量测序平台进行测序；同时，搭配分子标签技术，可满足 cfDNA 低频突变检测的需求。

产品特点

- 样本起始量低，文库转化率高，文库产出稳定高效
- 适用于 cfDNA、FFPE DNA、gDNA 等多种类型样本
- 搭配 UDI 技术，可有效减少数据串扰
- 结合分子标签技术 (UMI)，可满足低频变异检测的需求
- 适用于 Illumina 和 MGI 双平台
- 操作流程简单，可适配自动化工作站

适用于低起始量建库

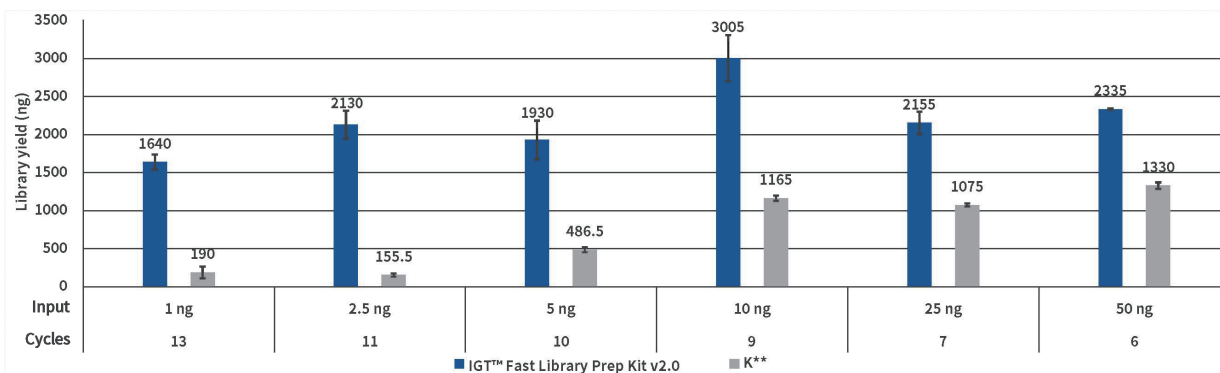


图 11. IGT™ Fast Library Prep Kit v2.0 试剂盒不同投入量文库产出表现。所用样本为 gDNA，将 gDNA 超声打断至 150~200 bp，按照打断前定量结果分别投入 1 ng、2.5 ng、5 ng、10 ng、25 ng、50 ng 进行文库构建，相同的投入量和循环数，IGT™ Fast Library Prep Kit v2.0 文库产量远高于市场上同类产品 K** 建库试剂盒的文库产量。

适用于 FFPE 样本

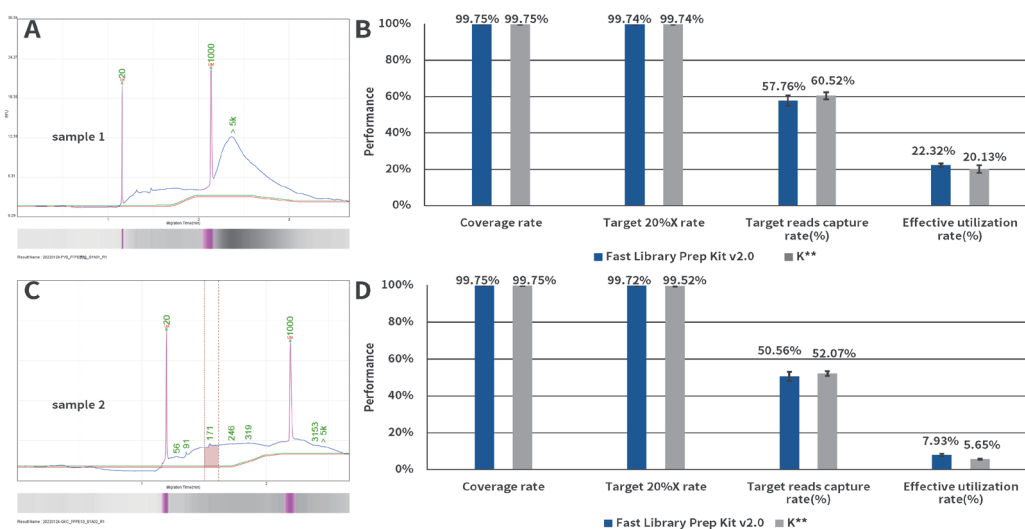


图 12. IGT™ Fast Library Prep Kit v2.0 对 FFPE 样本的数据表现。将 FFPE DNA 超声打断，按照打断前定量结果分别投入 50 ng 进行文库构建，构建的文库全部投入捕获，Panel 大小为 70 kb，NovaSeq 6000 平台 PE 150 测序。A、C：分别为样本 1、2 的质检结果。B、D：分别为样本 1、2 的数据表现，包括覆盖度、捕获效率、均一性、有效数据占比（目标区域去 dup 后有效碱基 / 比对到基因组上的碱基）。Fast Library Prep Kit v2.0 的覆盖度、捕获效率、均一性均表现优异，相同数据量下，有效深度更高。

分子回收效率高

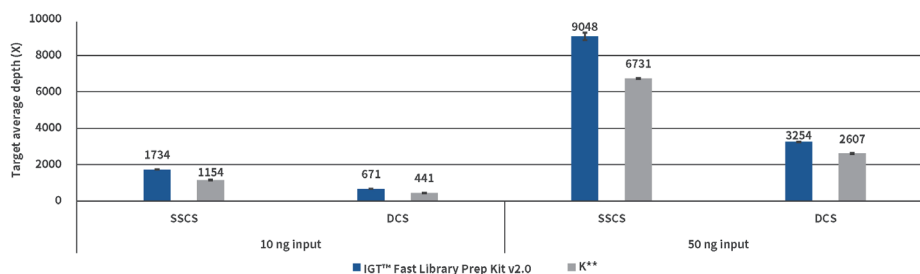


图 13. IGTM Fast Library Prep Kit v2.0 在去重前 ~20000× 时的 SSCS、DCS 深度表现。所用样本为 gDNA，将 DNA 超声打断至 150~200 bp，按照打断前定量结果分别投入 10 ng 和 50 ng 进行文库构建，接头为艾吉泰康的 IGTM UMI Adapter & UDI Primer (for Illumina)，使用 70 kb 的 Panel 进行探针杂交捕获，捕获文库在 NovaSeq 6000 平台进行 PE 150 测序。下机数据使用艾吉泰康® 搭建的 UMI 流程进行分析，分别计算单端校正后的目标区域深度和双端校正后的目标区域深度。IGTM Fast Library Prep Kit v2.0 所构建文库 SSCS、DCS 后的有效深度比 K** 建库试剂盒高 30%~50%。

变异检出一致性高

10

在相同投入量、相同去重前测序深度 (~27000×) 的情况下，IGTM Fast Library Prep Kit v2.0 所构建重复文库之间的突变结果 (VAF ≥ 0.5%) 组内相关系数 (ICC) 为 1.000，表明重复检测的突变结果高度一致。

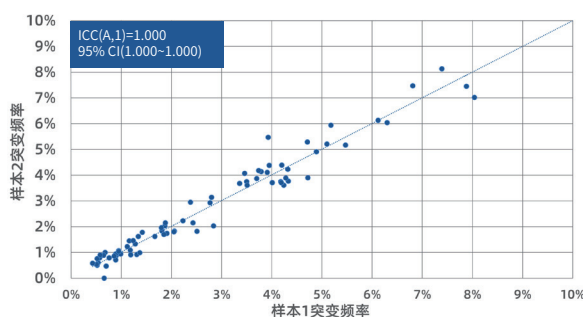


图 14. IGTM Fast Library Prep Kit v2.0 重复样品间变异一致性。投入 30 ng 1% ctDNA 标准品 (菁良, Cat. GW-OCTM009) 进行文库构建，接头为艾吉泰康的 Insert UMI Kit (for ILM)，使用 70 kb 的 Panel 进行捕获，捕获文库在 NovaSeq 6000 平台进行 PE 150 测序。下机数据使用艾吉泰康® 搭建的 UMI 流程进行分析，根据变异结果分析 VAF ≥ 0.5% 的变异检出一致率。

低频变异检测准确性高

将预期变异频率为 1% 和野生型 cfDNA 标准参考品 (Horizon Discovery, Cat. HD780) 等比例混合为 0.5% 的 cfDNA 标准参考品，投入 10 ng 进行文库制备，接头为艾吉泰康的 IGTM UMI Adapter & UDI Primer (for Illumina)，随后采用 70 kb 的 Panel 进行捕获，捕获后文库在 NovaSeq 6000 平台上进行 PE150 测序。按照不同的去重前测序深度截取数据量，最终取去冗余前平均测序深度约为 10000× 的情况下，已知 8 个变异位点均能检测到，且检测频率和已知频率高度一致，灵敏度和特异性 * 均为 100%。

表 4. IGTM Fast Library Prep Kit v2.0 对 0.5% cfDNA 已知突变位点检出情况

Gene	Variant (AA)	Expected allelic frequency (%)	Repeat 1 Vaf	Repeat 2 Vaf
EGFR	L858R	0.50%	0.40%	0.47%
EGFR	ΔE746-A750	0.50%	0.55%	0.48%
EGFR	T790M	0.50%	0.81%	0.40%
EGFR	V769-D770insASV	0.50%	0.44%	0.25%
KRAS	G12D	0.65%	0.72%	0.70%
NRAS	Q61K	0.65%	0.61%	0.77%
NRAS	A59T	0.65%	0.76%	0.68%
PIK3CA	E545K	0.65%	0.45%	0.70%

* 特异性根据基因组上其他指定位置的碱基检测结果计算

通用型酶切建库试剂盒，自动化建库的首选

产品简介

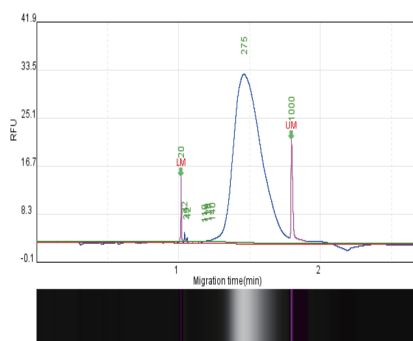
IGT™ Enzyme Plus Library Prep Kit 是一款适用于 Illumina 和 MGI 高通量测序平台的双链 DNA 文库构建试剂盒。该试剂盒采用高质量的酶学组成，摆脱了繁琐的超声打断过程，操作流程更简单，适用于全基因组测序和探针杂交捕获测序，是自动化建库的首选。

产品特点

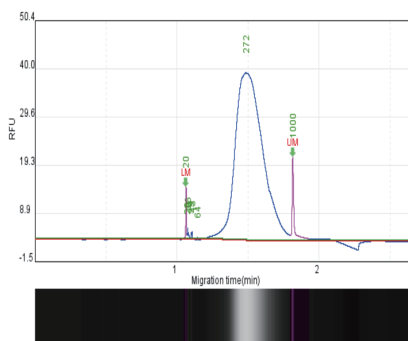
- DNA 片段化、末端修复、3' 端加 A 一步完成
- 适用于不同起始量及 FFPE 样本建库
- 文库插入片段灵活可控
- 文库转化效率高，数据表现好
- 可应用于全基因组测序、杂交捕获测序
- 自动化建库的首选

文库转化效率高

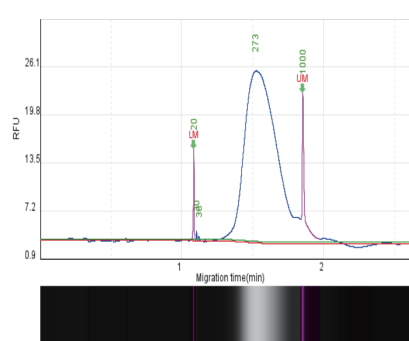
A IGT™ Enzyme Plus Library Prep Kit 酶切 25 min



B Fast Library Prep Kit 超声 30 min



C K* Enzyme 酶切 25 min



D

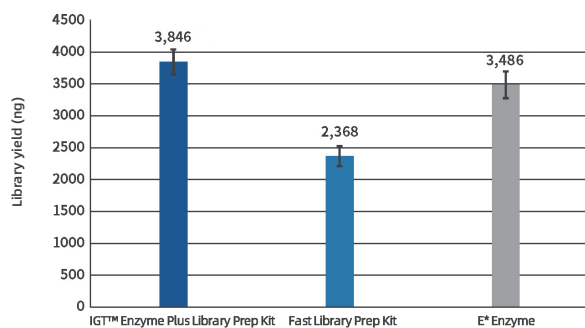


图 15. IGT™ Enzyme Plus Library Prep Kit 与其他建库方法的文库表现。所用样本为 gDNA，投入 200 ng 进行建库，搭配 Illumina 平台接头，PCR 循环数 5。

A、B、C：不同建库方法的文库片段大小示例；

D：不同建库方法的文库产量（ng）。IGT™ Enzyme Plus Library Prep Kit 与超声打断建库方法和同类酶切建库方法相比，文库片段大小相似，且酶切文库转化效率更高。

兼容不同起始量样本建库

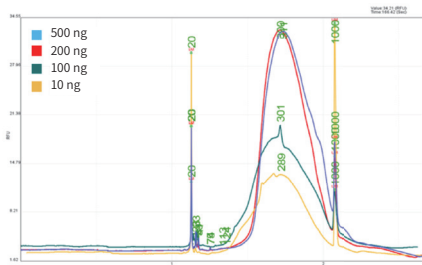


图 16. gDNA 样本不同投入量的文库峰图。所用样本为 gDNA，分别投入 10 ng、50 ng、100 ng、200 ng 进行文库构建，酶切时间均为 20 min，按照推荐的循环数进行扩增，不同投入量文库片段分布一致且集中。

文库插入片段灵活可控

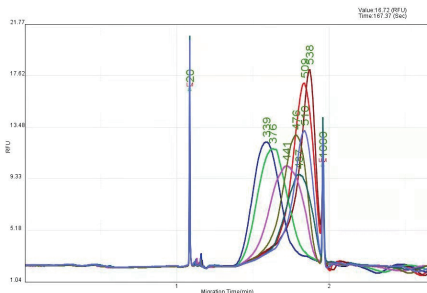


图 17. 不同磁珠分选条件的文库片段分布。投入 200 ng gDNA 样本进行建库，酶切打断时间为 15 min，选择不同比例的磁珠分选方法，最终文库插入片段可灵活控制在 150~400 bp 之间。可实现通过不同比例磁珠筛选插入片段大小的目的，以满足各种插入片段及测序读长的建库需求。

对于低质量 FFPE 样本也有较好的兼容性

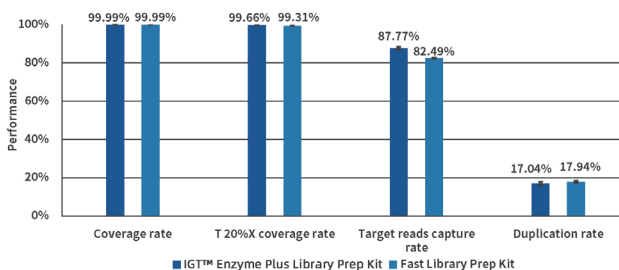
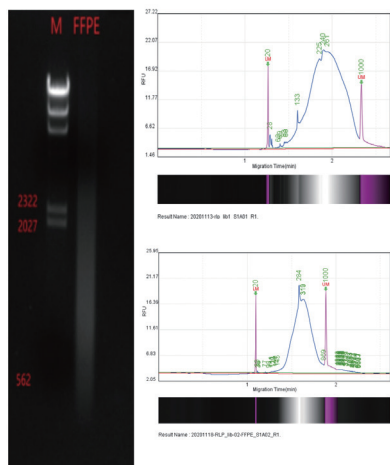


图 18. 低质量 FFPE 样本的建库表现。所用的 FFPE 样本中度降解，条带主要分布在 500~2500 bp，成弥散状。样本投入量均为 200 ng，分别采用 IGT™ Enzyme Plus Library Prep Kit 酶切打断 5 min 和 Fast Library Prep Kit 超声打断 10 min 进行文库构建，后续使用 940 kb panel 进行捕获；捕获数据的覆盖度、均一度均表现优异。

性能稳定，高性价比

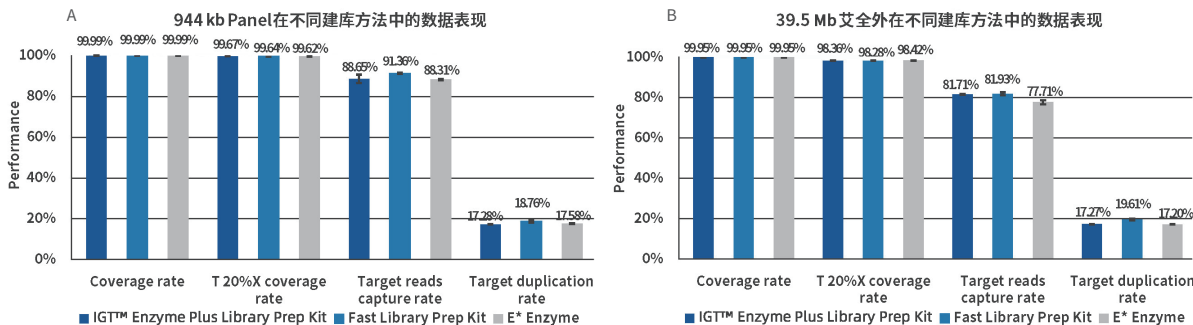


图 19. IGT™ Enzyme Plus Library Prep Kit 与其他建库方法的捕获数据表现。所用样本均为 gDNA，建库投入量 200 ng，PCR 循环数为 5，分别采用 A: 944 kb panel 和 B: 39.5 Mb 艾全外进行捕获建库。结果显示，IGT™ Enzyme Plus Library Prep Kit 的数据指标与超声打断建库及市场上同类酶切建库产品的数据指标相当，性价比更高。

Illumina/MGI 平台 UDI, 有效避免 Index 串扰

产品介绍

IGT™ Adapter & UDI Primer (for Illumina) / IGT™ Adapter & UDI Primer (for MGI) 是艾吉泰康® 独家专利设计的双端唯一标签接头试剂盒。该系列产品包含 Illumina 平台或 MGI 平台通用接头以及相应的 UDI Primer, 并提供 384 种 UDI 序列供客户选择, 能够满足高通量测序平台单条 lane 超高数据产量的混样需求。试剂盒经过严格的质量控制和功能验证, 可有效减少样本标签错配问题, 提高检测准确度。

产品优势

- 操作简便

每种 UDI 引物都预混为 MIX, 操作者可以直接使用, 无需手动混合 i5 和 i7 端的 index 引物, 避免加样过程中潜在的标签交叉污染风险。

- 有效避免数据串扰

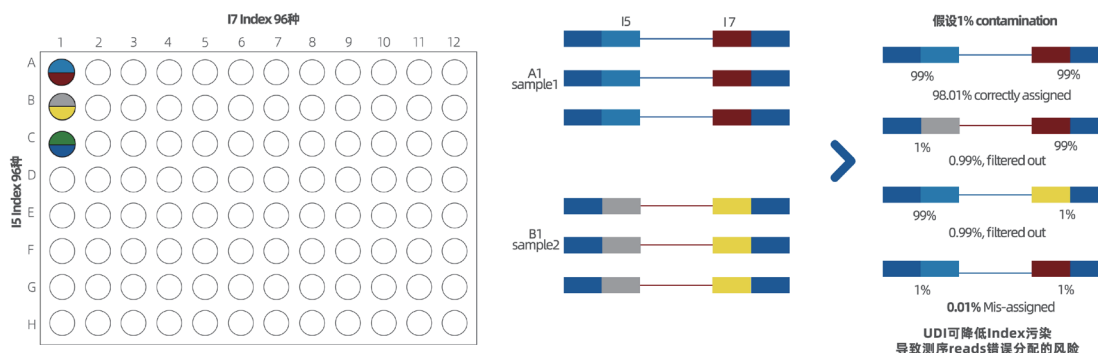


图 20. UDI 的 i5/i7 双侧验证原理图。在文库构建时, UDI 产品会给每一个样本连上双端唯一的 index 序列, 假设每端有 1% 的 index 在建库、测序过程中出现错配, 只有两端带有完全正确 index 的 reads 才能进入后续的样本分析, 从而有 98.01% 完全正确匹配的 reads 被保留, 1.98% 错配的 reads 被剔除, 0.01% 错配的 read 根据上机信息被剔除或保留, 有效避免样本之间的数据串扰。

- 提高数据准确度

通过分析 UDI 序列与对应的特异质控序列不匹配的 reads 的百分比来评估 index hopping 频率, 证明 UDI 可准确识别串扰数据并将 index hopping 频率降低至 0.1% 以下。

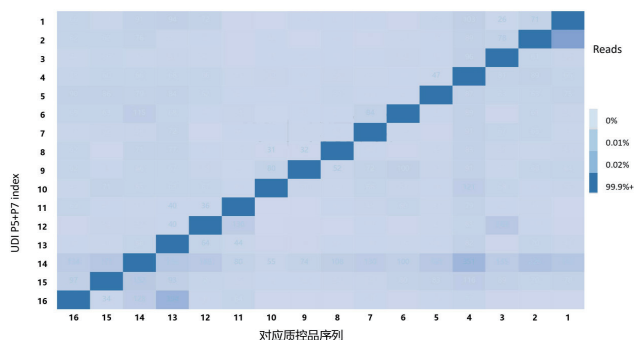


图 21. 标签串扰质检结果。实验选取 16 种 UDI 进行建库和测序分析, 分析原始下机数据 i5 和 i7 端 index 组合的占比。通过分析 UDI 序列与对应的特异质控序列不匹配的 reads 的百分比来评估 index hopping 的频率。实验结果证明, UDI 可准确识别串扰数据并将 index hopping 频率降低至 0.1% 以下。

illumina/MGI 平台 UMI, 助力低频突变检测

产品介绍

IGT™ UMI Adapter & UDI Primer (for Illumina) / IGT™ UMI Adapter & UDI Primer (for MGI) 是包含双端 UMI 接头 mix 和 UDI 引物的接头试剂盒。两端各包含 64 种 6 bp 的 UMI 接头, 可产生 4096 种组合 UMI, 其多样性足以区分原始 DNA 分子; UMI 序列之间编辑距离 ≥ 3 , 可以更准确地校正 DNA 分子在文库构建、靶向区域捕获和测序过程中产生的错误。同时, 该系列产品可提供 Illumina 平台和 MGI 平台 384 种 UDI 序列供客户选择, 能够满足高通量测序平台单条 lane 超高数据产量的混样需求。

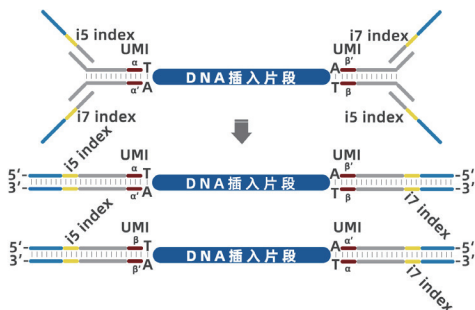


图 22. IGT™ UMI Adapter & UDI Primer (for Illumina) 文库构建流程

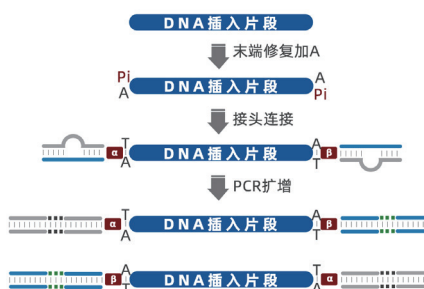


图 23. IGT™ UMI Adapter & UDI Primer (for MGI) 文库构建流程

14

检测案例

投入 25 ng 的 0.1% Horizon cfDNA 参考标准品 (Horizon HD780) 进行建库, 使用 52 kb 大小的 panel 进行探针杂交捕获, 构建的文库使用 NovaSeq 6000 进行测序。去冗余前目标区域平均测序深度 $20000\times$ 条件下, 已知 8 个突变位点均能检测到, 灵敏度和特异性均为 100% (表 5)。

表 5. Horizon 0.1% cfDNA 参考样品的测序数据表现

EGFR L858R	EGFR T790M	EGFR delE746-A750	EGFR V769-D770insASV	KRAS G12D	NRAS Q61K	NRAS A59T	PIK3CA E545K	敏感性	特异性*
0.08%	0.10%	0.09%	0.06%	0.10%	0.12%	0.16%	0.21%	100%	100%

* 特异性根据基因组上其它指定位置的碱基检测结果计算

ctDNA 低频检测中引入分子标签技术可显著降低假阳性位点识别数量。经过标准去冗余之后, 可检测到 Horizon 标准品中有 526 个 VAF 低于 3% 的突变; 结合使用 UMI 和比对到基因组上的坐标位置对数据进行单链一致序列合并 (SSCS 去重矫正) 后, 检测到 163 个 VAF<3% 的突变; 相比之下, 使用 UMI 进行 cfDNA 分子正负链错误矫正 (DCS 去重矫正) 合并后, 仅检测到 15 个 VAF<3% 的低频突变, 其中包括 8 个已知突变位点。使用双端 UMI 技术, 低频等位基因的认识率与标准去重方法相比降低了 97% (图 24)。

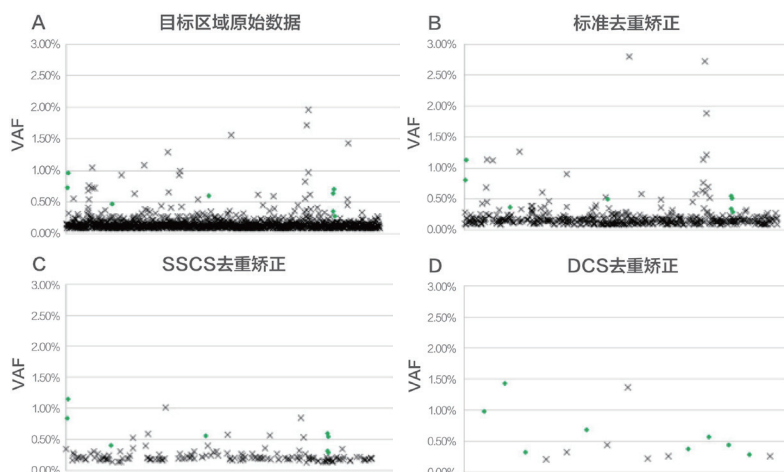


图 24. IGT™ UMI Adapter & UDI Primer (for Illumina) 可显著降低背景噪音

通用型接头封阻序列，封阻效果表现优异

产品介绍

TargetSeq® Universal Blocking Oligo 是探针杂交捕获流程中用于封阻文库接头的通用封阻序列。该系列产品可与文库的接头序列结合，阻止杂交过程中文库接头间的结合，从而提高靶向捕获特异性，提升数据利用率。艾吉泰康可提供 Illumina 平台、MGI 平台单端、MGI 平台双端的通用封阻序列，以满足不同平台的测序需求。

适用封阻文库类型

产品名称	适用封阻文库类型
TargetSeq® Universal Blocking Oligo (for Illumina)	Illumina 平台 TruSeq 文库，包含单端、双端 index 文库，单端、双端 UMI 文库
TargetSeq® Universal Blocking Oligo (for MGI SI)	MGI 平台单端 index 文库
TargetSeq® Universal Blocking Oligo (for MGI DI)	MGI 平台双端 index 文库，包含双端 index 和双端 UMI 文库

优异的封阻效果

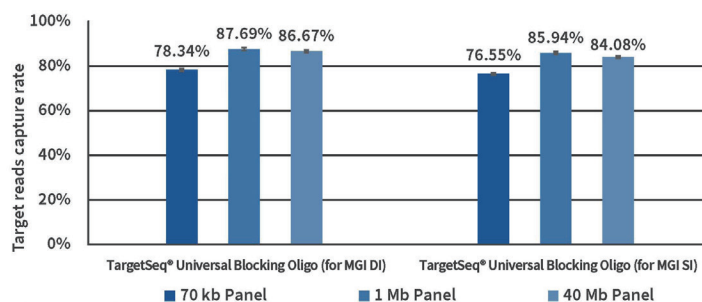


图 25. MGI 平台 Universal Blocking Oligo 对不同大小 panel 的封阻效果展示。实验样本为 gDNA，文库构建采用 IGT™ Enzyme Plus Library Prep Kit，分别搭配 IGT™ Adapter & UDI Primer (for MGI) 和 IGT™ Adapter & Single-Indexed Primer (for MGI) 完成，随后采用 70 kb、1 Mb、40 Mb 大小的 Panel 进行捕获富集，并在 MGISEQ-2000 平台使用 PE150 进行测序，下机数据经过 clean、Mapping 后，以比对到 Panel 的 reads 数计算捕获效率。

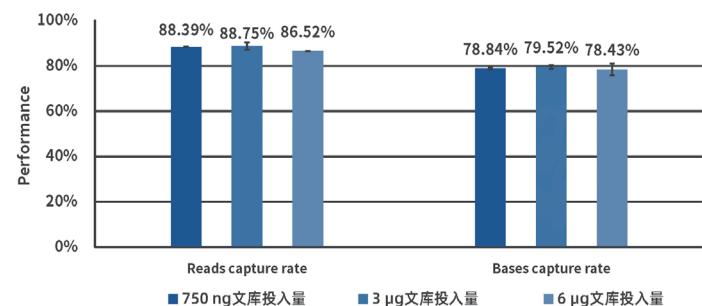


图 26. TargetSeq® Universal Blocking Oligo (for Illumina) 对不同文库投入量的封阻效果展示。实验样本为 gDNA，文库投入量分别为 750 ng、3 µg 以及 6 µg，采用 TargetSeq One® 杂交体系，选择 1 Mb Panel 进行捕获，并在 NovaSeq 6000 平台进行 PE150 测序，下机数据经过质控和比对后，以比对到探针覆盖区域的 reads 数、base 数分别计算捕获效率。

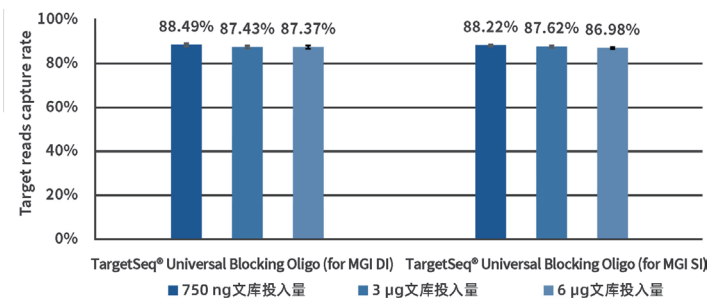


图 27. MGI 平台 Universal Blocking Oligo 对不同文库投入量的封阻效果展示。实验样本为 gDNA，文库投入量分别为 750 ng、3 µg 以及 6 µg，采用 TargetSeq One® 杂交体系，选择 1 Mb Panel 进行捕获，并在 MGISEQ-2000 平台使用 PE150 进行测序，下机数据经过质控和比对后，以比对到探针覆盖区域的 reads 数计算捕获效率。

生产平台介绍

生产平台介绍

艾吉泰康于距离上海仅 50 公里的嘉兴市建立华东生产基地，总面积达 2464.7 平方米，共投资 4000 余万元。

生产基地严格遵循高要求的建设标准，并且通过了 ISO13485 和 ISO9001 质量管理体系认证。同时，基地设有基因检测试剂盒生产厂房、十万级洁净车间、局部万级洁净车间，按照 GMP 体外诊断试剂生产工艺建造。并参考医疗机构临床基因扩增检验实验室设置标准、结合最新的临床基因高通量测序检测实验室设置专家共识建造了基因检测科技服务实验室。华东生产基地与北京总部充分利用南北经济中心优质资源，为全国客户提供更为专业优质的服务。



16

累计的项目经验

艾吉泰康产品及服务已覆盖我国的 33 个省、直辖市、自治区及特别行政区，并为海内外数百家测序企业、数千名医生和科研工作者提供优质、高效、集约的基因检测一站式解决方案。

依托核心知识产权的 TargetSeq® 杂交捕获测序技术和 MultipSeq® 多重扩增子测序技术，艾吉泰康团队及成员累计发文 100+，累计影响因子 300+。联合创始人屈武斌领衔发表引物设计专著《PCR Primer Design》（第二版，第三版）其公开发表的设计软件已在全球几百家机构中广泛使用。

截止 2022 年 6 月，艾吉泰康定制试剂盒 1500 多种，其中杂交捕获测序定制试剂盒达 800+，多重扩增子测序定制试剂盒达 600+；总计生产 200w+ 例样本的检测试剂盒，拥有 15w+ 例提取和 25w+ 例样本杂交捕获测序经验，试剂盒与组分供应近千家检测中心和临床中心。

标准的质控流程

艾吉泰康针对每一款 TargetSeq® Panel 均会进行 NGS 质控，只有测试指标达到预期才出库销售，且不同批次探针稳定性好，确保实验的可重复性。

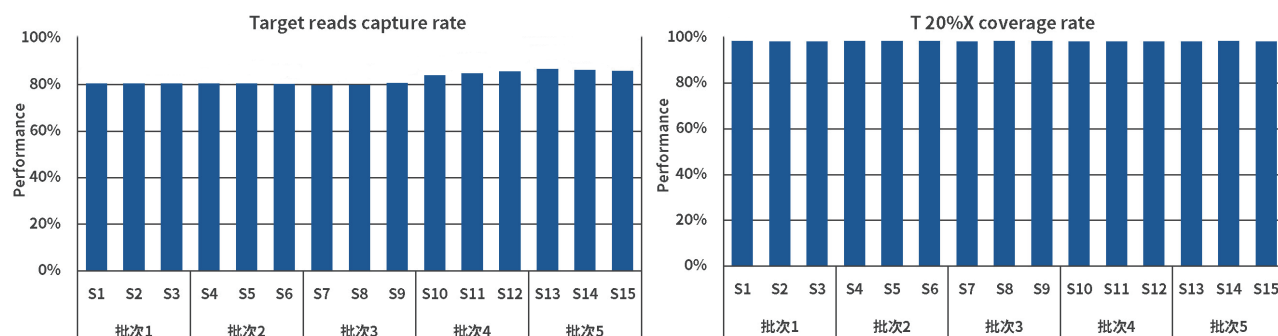


图 28. 艾全外® V2 探针连续合成批次的质控结果

服务流程

定制周期

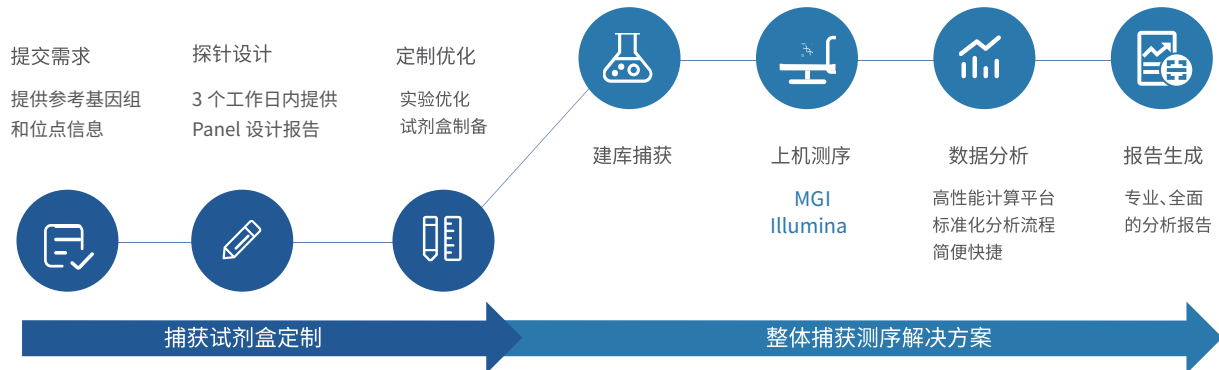
20 workdays

Panel 定制合成、试剂盒制备

10 workdays

标准品测试

定制流程



CDMO 服务



图 29. 艾吉泰康 GMP 体外诊断试剂生产车间鸟瞰图

艾吉泰康可为客户提供适用于临床诊断的 IVD 产品的核心原材料。艾吉泰康已为中国近千家客户提供了上百种预制化的基因捕获产品和高性能试剂组分、超过 1500 种高标准个性化定制的基因捕获产品，并为数十个 NGS IVD 在途或在报产品提供了核心原材料。

艾吉泰康 NGS IVD 产品 CDMO 服务的优势

拿证时间
减少1~2年

成本
降低30%

交付能力
增加100%

技术支持和售后服务

- 系统技术培训：提供现场或在线的技术说明、全流程技术指导、实验室管理系统培训课程等。
- 专业驻场支持：资深技术工程师提供现场生产及管理指导，一方面提供现场操作指导，同时参与起始投产流程，以保障实验室顺利运行。
- 售后承诺：艾吉泰康® 承诺技术工程师 24 h 内响应客户问题，提供专业指导。

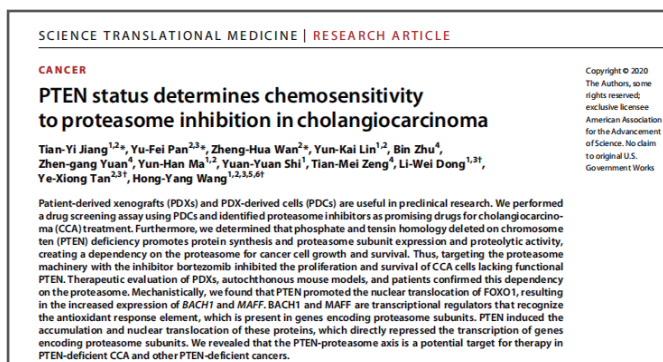
案例分享

肿瘤方向应用

艾吉泰康 TargetSeq® 杂交捕获测序技术目前已广泛应用于精准医学领域，致力于靶向捕获产品在肿瘤研究、用药筛选、遗传筛查、健康监测、免疫等方面的转化与应用。

案例一

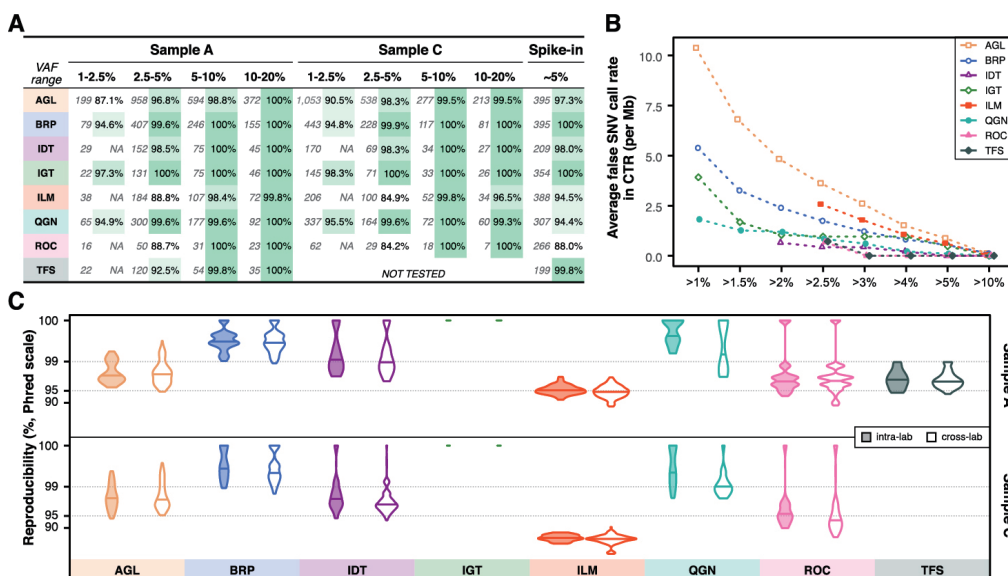
靶向测序已经成为肿瘤靶向用药的重要检测手段，但鉴定和开发新的肿瘤治疗靶点和有效药物也十分重要。在该项研究中，研究人员通过药敏试验、基因筛选、细胞生物学实验等多种手段，发现在多种癌症（包括胆管癌）中抑癌基因 *PTEN* 的缺陷使肿瘤对蛋白酶体抑制剂敏感，为蛋白酶体抑制剂的抗癌治疗提供了精准用药的指导，该研究或将为 *PTEN* 突变肿瘤的治疗提供新的策略。艾吉泰康® 承担了本研究中的 *PTEN* 基因全长序列的捕获测序工作。



参考文献: Jiang T Y, Pan Y F, Wan Z H, et al. PTEN status determines chemosensitivity to proteasome inhibition in cholangiocarcinoma[J]. Science Translational Medicine, 2020, 12(562): eaay0152.

案例二

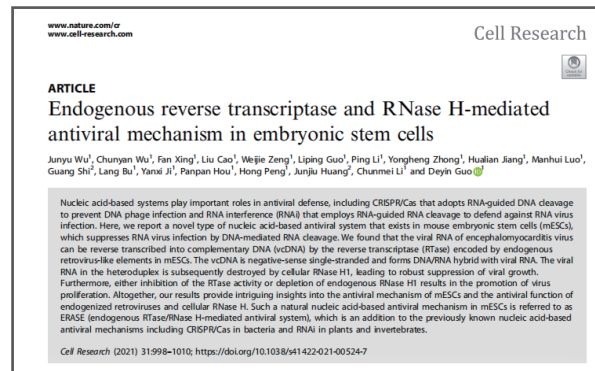
美国 FDA 国际 MAQC 组学大数据质量控制学会举办捕获技术性能测试，艾吉泰康的产品在突变检出率、假阳性率、敏感度等各项指标处于领先水平。参与测试的基因捕获技术平台厂家为安捷伦、罗氏、IDT、Illumina、Qiagen、赛默飞等。



参考文献: Gong B, Li D, Kusko R. et al. Cross-oncopanel study reveals high sensitivity and accuracy with overall analytical performance depending on genomic regions. Genome Biol. 22(1):109 (2021)

免疫方向应用

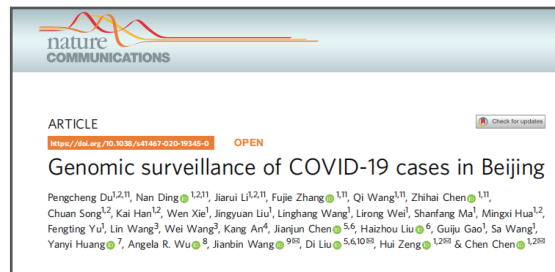
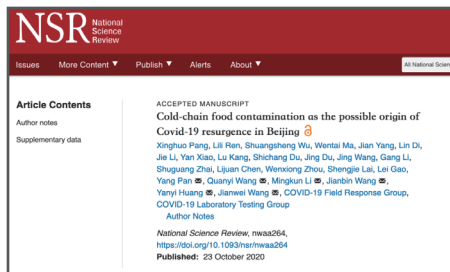
CRISPR/Cas 是细菌和古细菌通过 RNA 引导的 DNA 切割来抵抗 DNA 噬菌体感染和 RNA 感染。在本研究中，研究人员报道了一种存在于小鼠胚胎干细胞 (mESCs) 中的新型核酸抗病毒机制，它通过 DNA 介导的 RNA 裂解来抑制 RNA 病毒感染，是 RNAi 和 CRISPR 抗病毒机制之外又一种核酸依赖的抗病毒机制。艾吉泰康® 承担了本研究中的 encephalomyocarditis virus 病毒全长的探针设计和捕获工作。



参考文献: Wu J, Wu C, Xing F, et al. Endogenous reverse transcriptase and RNase H-mediated antiviral mechanism in embryonic stem cells[J]. Cell research, 2021, 31(9): 998-1010.

微生物方向应用

艾吉泰康对疫情做到迅速响应，以超强研发实力于 2020 年 2 月份推出首款新冠病毒检测试剂盒，并在当年 3 月获取了两款新冠试剂盒的欧盟 CE 认证。艾吉泰康新冠病毒试剂盒广泛应用于北京大学、国家 CDC、军队 CDC 等多个高等科研院所，并帮助完成了北京新发地新冠疫情的溯源研究。



参考文献: Pang X., Ren L., Wu S. et al. Cold-chain food contamination as the possible origin of Covid-19 resurgence in Beijing. National Science Review, 7:1861-1864 (2020)
Du, P., Ding, N., Li, J. et al. Genomic surveillance of COVID-19 cases in Beijing. Nat Commun. 11, 5503 (2020)

大健康方向应用



基于全外显子的基因检测在大健康领域具有重要作用，艾吉泰康可根据解读区域定制特色 WES 产品。2021 年 12 月 24 日，基云惠康和艾吉泰康联合开发的用于大健康检测的全外产品 --- 基云惠康加强全外显子健康评估套餐升级版隆重上市。

微信文章来源: <https://mp.weixin.qq.com/s/zcRT4VYg5w-TGZlOu20-NQ>

TargetSeq® 客户文章精选

TargetSeq® 系列定制产品已在科研和临床中广泛使用。目前已有多篇应用 TargetSeq® 定制产品的文章成功发表，以下为部分文章列表：

1. Wu J, Wu C, Xing F, et al. Endogenous reverse transcriptase and RNase H-mediated antiviral mechanism in embryonic stem cells[J]. *Cell research*, 2021, 31(9): 998-1010.
2. Wu X, Ning C, Key F M, et al. A 3,000-year-old, basal *S. enterica* lineage from Bronze Age Xinjiang suggests spread along the Proto-Silk Road[J]. *PLoS Pathogens*, 2021, 17(9): e1009886.
3. Xu L S, Chen Y S. Phylogeny, origin, and dispersal of *Dubyaea* (Asteraceae) based on Hyb-Seq data[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2021, 164: 107289.
4. Shen L, Li P, Zheng T, et al. Comparative analysis of the autism-related variants between different autistic children in a family pedigree[J]. *Molecular medicine reports*, 2021, 24(4): 1-11.
5. Li M, Noshay J M, Dong X, et al. A capture-based assay for detection and characterization of transposon polymorphisms in maize[J]. *G3*, 2021, 11(7): jkab138.
6. Yu X C, Li M J, Cai F F, et al. A new TEX11 mutation causes azoospermia and testicular meiotic arrest[J]. *Asian Journal of Andrology*, 2021, 23(5): 510.
7. Jiang T Y, Feng X F, Fang Z, et al. PTEN deficiency facilitates the therapeutic vulnerability to proteasome inhibitor bortezomib in gallbladder cancer[J]. *Cancer Letters*, 2021, 501: 187-199.
8. Jiang T Y, Pan Y F, Wan Z H, et al. PTEN status determines chemosensitivity to proteasome inhibition in cholangiocarcinoma[J]. *Science Translational Medicine*, 2020, 12(562): eaay0152.
9. Du M, He Y, Chen J, et al. Unique dual indexing PCR reduces chimeric contamination and improves mutation detection in cell-free DNA of pregnant women[J]. *Talanta*, 2020, 217: 121035.
10. Wang J, Li W, Shi Y, et al. Germline mutation landscape of Chinese patients with familial breast/ovarian cancer in a panel of 22 susceptibility genes[J]. *Cancer Medicine*, 2019, 8(5): 2074-2084.
11. Zhang W, Shi J, Zhang C, et al. Identification of gene variants in 130 Han Chinese patients with hypospadias by targeted next-generation sequencing[J]. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 2019, 7(8): e827.
12. Chen J, Chen J, He F, et al. Design of a targeted sequencing assay to detect rare mutations in circulating tumor DNA[J]. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 2019, 23(4): 264-269.
13. Dai X, Zheng C, Chen X, et al. Targeted next-generation sequencing identified a known EMD mutation in a Chinese patient with Emery-Dreifuss muscular dystrophy[J]. *Human genome variation*, 2019, 6(1): 1-4.
14. Zhao C, Wang Y, Nie X, et al. Evaluation of the effects of sequence length and microsatellite instability on single-guide RNA activity and specificity[J]. *International journal of biological sciences*, 2019, 15(12): 2641.
15. Yu F, Ma N, Zhang X, et al. Comprehensive investigating of cytokine and receptor related genes variants in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. *Cytokine*, 2018, 103: 10-14.
16. Yu F, Zhang X, Tian S, et al. Comprehensive investigation of cytokine-and immune-related gene variants in HBV-associated hepatocellular carcinoma patients[J]. *Bioscience Reports*, 2017, 37(6).
17. Dai D, Zhou S, Liu G, et al. Variation in genes related to lipid metabolism and the susceptibility of nonalcoholic fatty liver disease in obese children[J]. *Journal of Clinical Pediatrics*, 2017: 241-246.
18. Dai D, Wen F, Zhou S, et al. Association of MTP gene variants with pediatric NAFLD: A candidate-gene-based analysis of single nucleotide variations in obese children[J]. *PLoS one*, 2017, 12(9): e0185396.

附录 TargetSeq® 预定义目标区域探针

艾全外® 人全外显子组系列产品

产品名称	Panel 编号	目标区域大小	规格	货号
AIExome® Human Exome Panel V2	T192V1	39.5 Mb	16 rxn	PT1001481
			96 rxn	PT1001482
AIExome® Human Exome Panel V2 Plus	T192V1Plus	41.9 Mb	16 rxn	PT1001511
			96 rxn	PT1001512
AIExome® Human Exome Panel V3	T600V1	34.4 Mb	16 rxn	PT1008091
			96 rxn	PT1008092
AIExome® Human Exome Panel V3 - Inherit	T600V1G	36.6 Mb	16 rxn	PT1008101
			96 rxn	PT1008102

肿瘤方向产品

产品名称	Panel 编号	目标区域大小	规格	货号
AIExome® Human Exome Panel V2 - Tumor	T192V1T	39.9 Mb	16 rxn	PT1001521
			96 rxn	PT1001522
AIExome® Human Exome Panel V3 - Tumor	T600V1T	34.9 Mb	16 rxn	PT1008111
			96 rxn	PT1008112
TargetSeq® NSCLC Panel (8 Genes)	T040V19	67.2 kb	16 rxn	PT1000041
			96 rxn	PT1000042
TargetSeq® NCC Panel (113 Genes)	T074V1	944.1 kb	16 rxn	PT1000191
			96 rxn	PT1000192
TargetSeq® Pan-Cancer Panel	T364V1	2.1 Mb	16 rxn	PT1004171
			96 rxn	PT1004172
TargetSeq® HRD Panel	T382V1	3.9 Mb	16 rxn	PT1004581
			96 rxn	PT1004582
TargetSeq® HRR Panel	T420V1	177.9 kb	16 rxn	PT1005061
			96 rxn	PT1005062
TargetSeq® Hema Tumor Fusion RNA Panel	T508V1RNA	851.2 kb	16 rxn	PT1006641
			96 rxn	PT1006642

免疫方向产品

产品名称	Panel 编号	目标区域大小	规格	货号
TargetSeq® Human HLA Panel	T040V19	15.6 kb	16 rxn	PT1001831
			96 rxn	PT1001832
TargetSeq® Human MHC Panel	T074V1	4.9 Mb	16 rxn	PT1002021
			96 rxn	PT1002022

线粒体产品

产品名称	Panel 编号	目标区域大小	规格	货号
TargetSeq® Human Mitochondrial Panel	T033	16.5 kb	16 rxn	PT1000021
			96 rxn	PT1000022

微生物方向产品

产品名称	Panel 编号	目标区域大小	规格	货号
TargetSeq® HPV Panel	T092XV1	1.4 Mb	16 rxn	PT1000541
			96 rxn	PT1000542
TargetSeq® HBV Panel	T037V2	17.6 Mb	16 rxn	PT1000031
			96 rxn	PT1000032
TargetSeq® SARS-Cov-2 Panel	T363XV2	510.1 Mb	16 rxn	PT1004161
			96 rxn	PT1004162
TargetSeq® EBV Panel	T392XV1	52.4 Mb	16 rxn	PT1004681
			96 rxn	PT1004682



创新型基因行业引擎

艾吉泰康生物科技（北京）有限公司

网址：www.igenetech.com

邮箱：sales@igenetech.com

电话：010-89146623

公司总部：北京市昌平区中关村生命科学园生命园路8号院一区9号楼A座3层

嘉兴子公司：浙江省嘉兴市嘉善县大云镇宏业路371号2号楼

仅供研究使用，不可用于临床诊断。

版权声明：本手册版权属于艾吉泰康生物科技（北京）有限公司所有，未经本公司书面许可，任何其他个人或组织不得以任何形式将本手册中的各项内容进行复制、拷贝、编辑或翻译成其他语言。本手册中所有商标或标识均属于艾吉泰康生物科技（北京）有限公司及其提供者所有。

文档号：PMM220704

官方微信

