

单链DNA建库试剂盒

适用于低起始量样本的甲基化文库和基因组文库构建, 助力肿瘤早筛

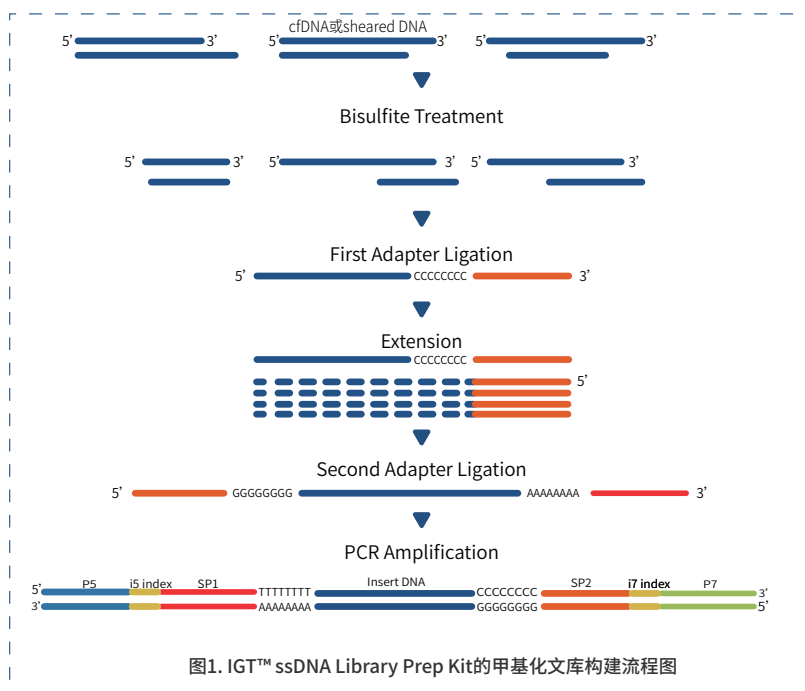
IGT™ ssDNA Library Prep Kit是一款通用型单链DNA建库试剂盒, 可用于1 ng~50 ng DNA起始的甲基化文库和基因组文库构建, 所构建的文库可进一步用于目标区域杂交捕获测序, 或直接测序。在甲基化文库构建过程中, 重亚硫酸盐处理会导致严重的DNA损伤、片段化、解链, 另外, 低质量或严重降解的DNA中也含有大量的DNA单链。IGT™ ssDNA Library Prep Kit可以对单链DNA进行接头连接, 大幅提高DNA原始分子的利用率, 提高文库的复杂度, 在低起始量样本的甲基化文库和基因组文库构建中具有显著的优势。

应用背景

ctDNA是来自于肿瘤细胞的DNA片段, 携带有点突变、插入、缺失、重排、拷贝数变异和甲基化等基因信息^[1]。正常细胞和肿瘤细胞的DNA甲基化状态存在很大差异, 往往在肿瘤发生的早期就能检测到甲基化的变化, 且DNA甲基化具有显著的组织特异性^[2], 可以通过检测DNA甲基化的状态进行组织溯源, 因此DNA甲基化具有作为肿瘤早筛生物标志物的潜力。然而在癌症早期, ctDNA在体液内含量较少且重亚硫酸盐法会对DNA造成较大损伤, 这要求有一种针对低起始量和破碎DNA的建库方法来提高分子回收率, 以提高早筛数据准确性。

产品优势

1. 适合于cfDNA、FFPE DNA等低起始量样本, 建库起始量可低至1 ng。
2. 甲基化文库构建流程中, 采用Post-BS建库策略, 大幅提高DNA模板的利用率。
3. 可有效提高文库复杂度, 增加测序有效数据。
4. 兼容全基因组甲基化测序、目标区域甲基化测序、全基因组测序和目标区域杂交捕获测序。



甲基化文库测序数据表现

1. 不同起始量样本的表现

IGT™ ssDNA Library Prep Kit搭配 BisCap®甲基化杂交捕获体系,适用于不同起始量样本,测序结果稳定。

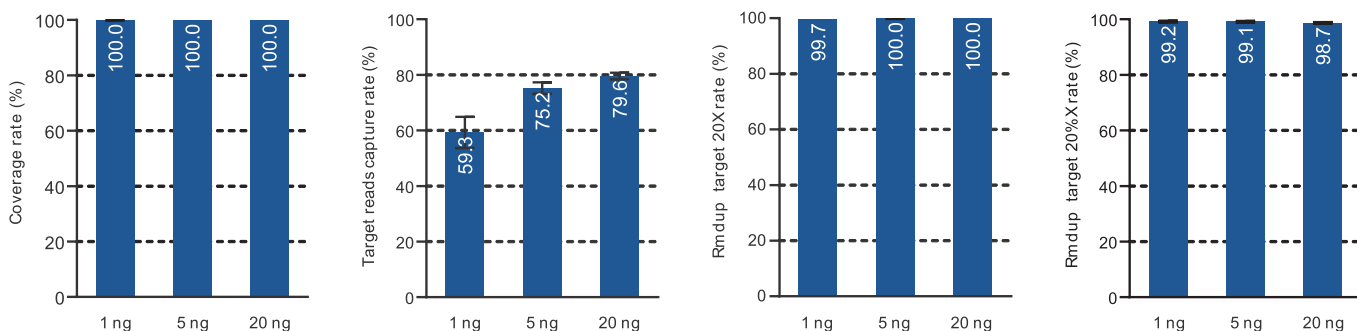


图2. IGT™ ssDNA Library Prep Kit试剂盒不同投入量的捕获数据表现。分别投入 1 ng、5 ng、20 ng cfDNA (样本为NA12878细胞系gDNA, 超声打断模拟cfDNA) 进行单链建库, 文库构建采用 IGT™ ssDNA Library Prep Kit 和 IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer (for Illumina), 使用123 kb的Panel进行捕获, NovaSeq 6000 平台 PE150 测序, 测序数据量平均为 1.8 Gb。

2. 极高的胞嘧啶转化率

IGT™ ssDNA Library Prep Kit在文库构建时,采用Bisulfite法进行转化, non-CG序列(包括CHG和CHH)的胞嘧啶转化率在99.2%以上。

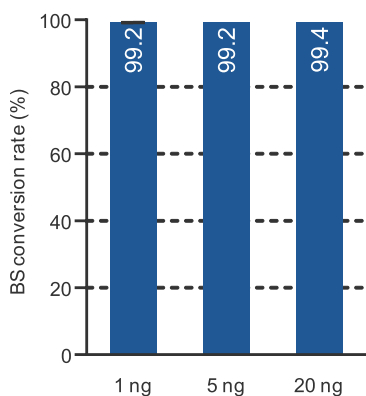


图3. IGT™ ssDNA Library Prep Kit试剂盒不同投入量样本的转化率表现。分别投入 1ng、5 ng、20 ng cfDNA (样本为NA12878细胞系gDNA, 超声打断模拟cfDNA) 进行Bisulfite转化建库, 使用123 kb的Panel进行捕获, NovaSeq 6000 平台 PE150 测序, 测序数据量平均为 1.8 Gb。

3. DNA原始分子利用率高

在相同测序数据量下,单链建库的投入量仅为双链建库投入量的1/10,单链建库的去重后有效深度更高。

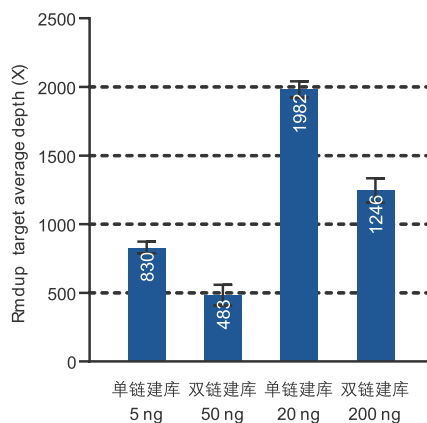


图4. IGT™ ssDNA Library Prep Kit和双链DNA建库试剂盒的有效深度表现。样本为NA12878细胞系gDNA, 分别投入5 ng、20 ng、50 ng、200 ng进行建库, 其中5 ng和20 ng文库构建采用 IGT™ ssDNA Library Prep Kit 和 IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer (for Illumina), 50 ng和200 ng 文库构建采用 IGT™ Methyl Fast Library Prep Kit v2.0 和 IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer (for Illumina), 使用123 kb的Panel进行捕获, 抽取1 Gb数据进行有效深度分析。

4. 文库捕获后的甲基化水平重复性表现优异

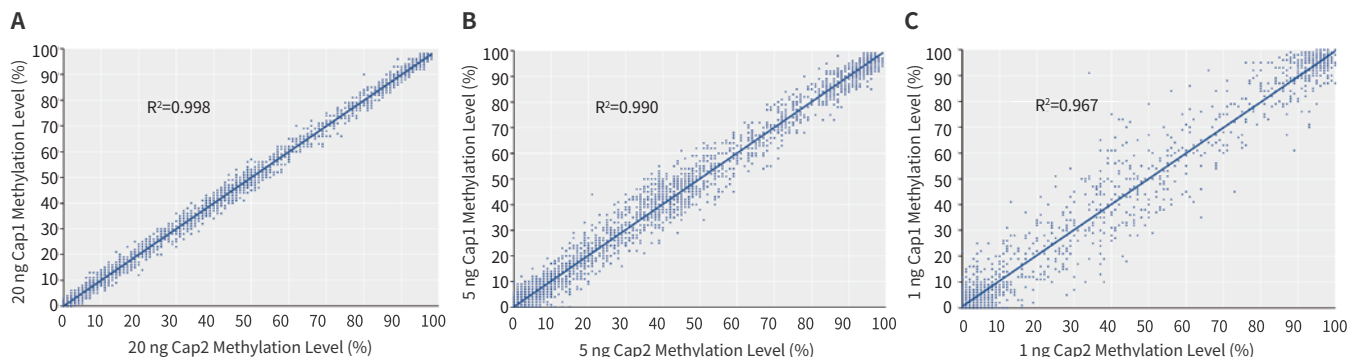


图5. 单链DNA建库试剂盒不同DNA投入量的甲基化水平重复性。分别投入A:20 ng, B:5 ng, C:1 ng cfDNA (样本为NA12878细胞系gDNA, 超声打断模拟cfDNA) 进行单链建库, 文库构建采用IGT™ ssDNA Library Prep Kit 和 IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer (for Illumina), 使用123 kb的Panel进行捕获, NovaSeq 6000平台PE150测序, 分析同一样本在不同批次捕获实验中CpG位点的甲基化水平重复性。

5. 单链文库和双链文库的甲基化水平高度一致

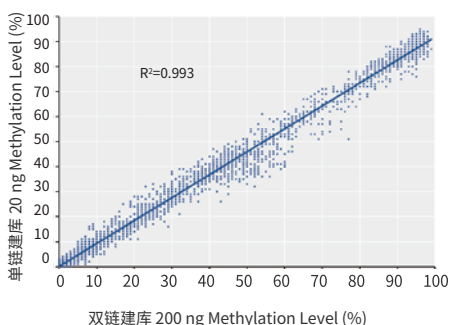


图6. 单链建库和双链建库试剂盒的甲基化水平相关性。投入20 ng cfDNA (样本为NA12878细胞系gDNA, 超声打断模拟cfDNA) 和200 ng gDNA (样本为NA12878细胞系gDNA) 进行超声打断建库, 20 ng投入量样本的文库构建采用 IGT™ ssDNA Library Prep Kit 和 IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer (for Illumina), 200 ng投入量样本的文库构建采用 IGT™ Methyl Fast Library Prep Kit v2.0 和 IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer (for Illumina), 使用123 kb的Panel进行捕获, NovaSeq 6000平台PE150测序, 在相同的测序深度(1000×)下, 分析单链建库和双链建库试剂盒的甲基化水平相关性。

*应用案例

BisCap® Human CpG Island Panel 大小为 21.2 Mb, 覆盖 27,000 个 CpG island, 将5 ng和20 ng的模拟cfDNA进行单链建库和捕获, NovaSeq 6000平台PE150测序, 数据量约为8.6 Gb。平均捕获效率在59%以上, 覆盖度在98%以上, 20X覆盖度在 90% 以上, 20%均一性在95%以上, 数据指标表现优异。

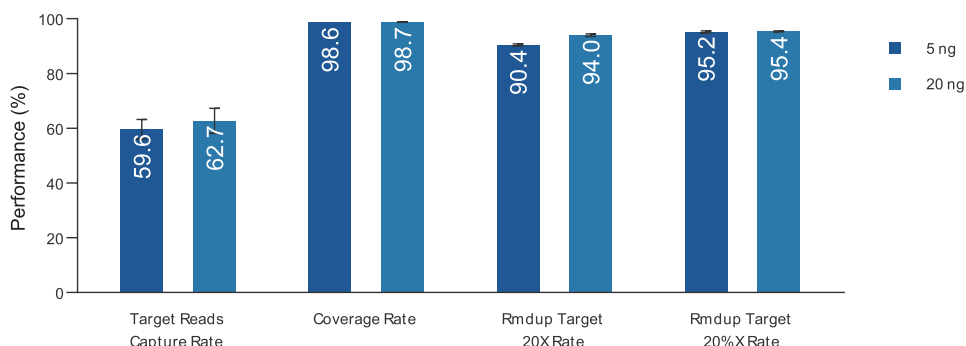


图7. CGI Panel搭配单链建库试剂盒的数据表现。

产品信息

试剂盒名称	规格	货号
IGT™ ssDNA Library Prep Kit	16 rxn	C10911
IGT™ ssDNA Library Prep Kit	96 rxn	C10912
IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer 1-16 (for Illumina, tube)	16*1 rxn	C10861
IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer 1-16 (for Illumina, tube)	16*6 rxn	C10862
IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer 1-96 (for Illumina, plate)	96*1 rxn	C10872
IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer 97-192 (for Illumina, plate)	96*1 rxn	C10882
IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer 193-288 (for Illumina, plate)	96*1 rxn	C10892
IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer 289-384 (for Illumina, plate)	96*1 rxn	C10902
TargetSeq® Eco Universal Blocking Oligo (for Illumina ssDNA Library)	16 rxn	C80791
TargetSeq® Eco Universal Blocking Oligo (for Illumina ssDNA Library)	96 rxn	C80792

参考文献

- Jonathan C. M. Wan, Charles Massie. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA[J]. Nature Reviews Cancer volume, 2017 Apr;17(4):223-238.
- Heyn H, Esteller M. DNA methylation profiling in the clinic: applications and challenges[J]. Nature Reviews Genetics, 2012, 13(10): 679-692.



官方微信

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: PMM220902