

BisCap[®]

甲基化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

DNA 甲基化应用背景	02
BisCap® 甲基化捕获测序技术	04
BisCap® 甲基化捕获定制产品特点和优势	05
BisCap® 探针设计方案	05
BisCap® 甲基化杂交捕获体系	06
甲基化捕获一站式解决方案	07
方案概述	07
单链 DNA 建库试剂盒，有效提高文库丰富度和数据有效性	08
BisCap® Human CpG Island Panel, 肿瘤甲基化早筛 Marker 研发新方案	11
生产平台介绍	14
生产平台介绍	14
积累的项目经验	14
严格的质控流程	14
服务流程	15
定制周期	15
定制流程	15
CDMO 服务	15
技术支持和售后服务	15
参考文献	16
附录：艾吉泰康甲基化试剂盒产品信息	17

DNA 甲基化应用背景

什么是甲基化?

DNA 甲基化, 一般指的是 DNA 上的 5- 甲基胞嘧啶 (5mC) 修饰, 是 DNA 上丰度最高的表观遗传修饰, 也是目前研究最广泛的表观遗传修饰之一。甲基化通常发生于功能相关的二核苷酸 CpG, 在人类基因组中, 约有 2800 万个 CpG 位点, 其中约有 70% CpG 位点在正常体细胞中为甲基化状态, 而位于 CpG 岛内的 CpG 位点通常在正常体细胞中为未甲基化状态^[1]。甲基化的修饰具有调控染色质结构及基因表达的功能, 可以影响机体对环境的响应, 或者预示某些早期的异常状态。

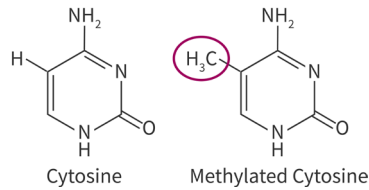


图 1. 未甲基化的胞嘧啶和甲基化的胞嘧啶 (5mC)^[2]

DNA 甲基化与肿瘤

正常细胞和肿瘤细胞的 DNA 甲基化状态存在很大差异。例如, 在正常细胞中, 位于很多抑癌基因启动子区的 CpG 岛处于较低甲基化状态, 而在肿瘤细胞中, 这些区域的 CpG 岛被高度甲基化, 抑癌基因的表达下降^[3]。往往在肿瘤发生的早期就能检测到甲基化的变化, 因此 DNA 甲基化具有作为肿瘤早筛生物标志物的潜力^[4]。另外, DNA 甲基化具有显著的组织特异性, 可以通过检测 DNA 甲基化的状态进行组织溯源^[5]。

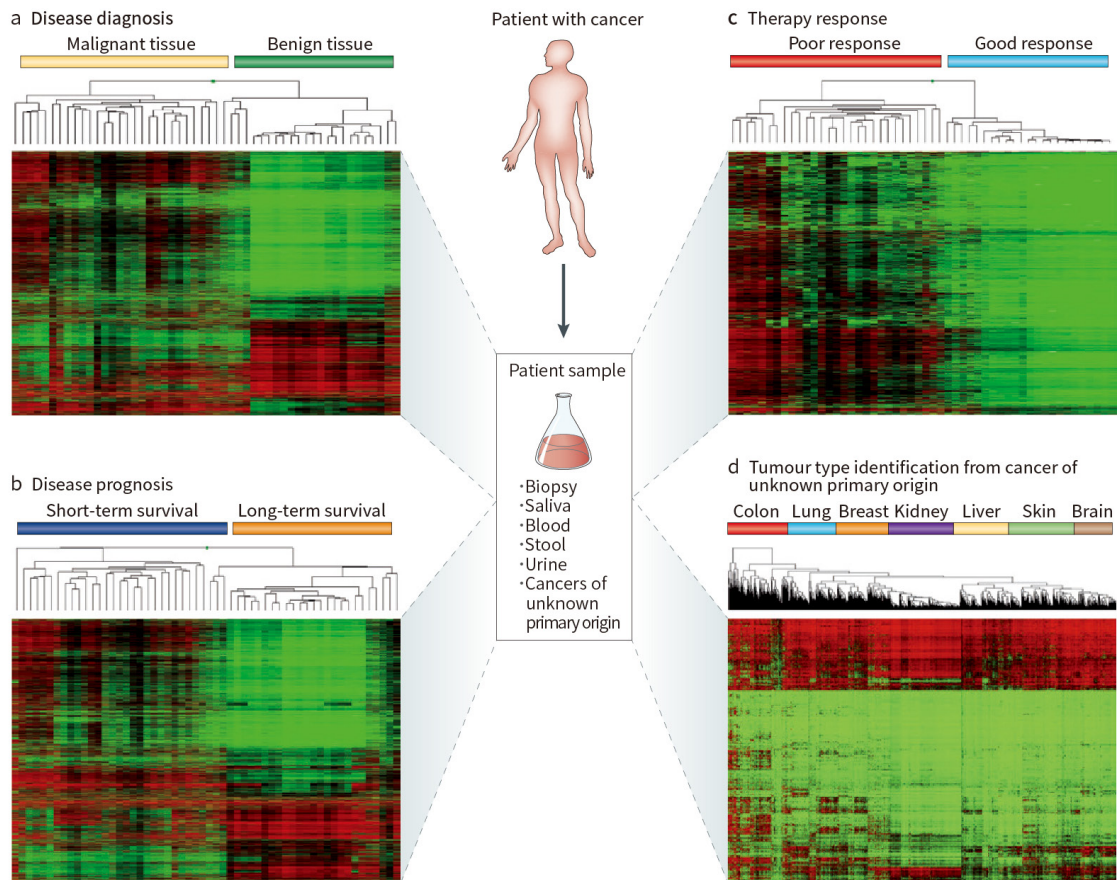


图 2. 组织来源、药物响应、预后状态、肿瘤类型的差异均与甲基化修饰差异有关^[3]

检测甲基化的意义

1. 科研领域研究

甲基化分子功能机制研究。

甲基化标志物研究：疾病预警、个性化治疗、环境暴露干预、表观基因组标记物筛选及模型建立等。

甲基化调控机制研究：药物干预、环境暴露等。

2. 临床应用研究

疾病诊断：恶性和良性疾病的病人，总体甲基化修饰状态不同，且部分疾病（如阿尔茨海默症）和甲基化修饰变化的关联性远大于和 DNA 变异的关联性^[6]。

治疗响应：响应不同的病人，总体甲基化修饰状态不同，如结直肠癌中 MGMT 的超甲基化和化疗药物疗效显著相关^[7]。

疾病预后：预后有差异的病人，总体甲基化修饰状态不同，如非小细胞肺癌、脑胶质瘤等疾病的部分病人，可以根据靶基因的启动子超甲基化水平来判断预后^[8]。

表 1. 部分与甲基化修饰异常相关的疾病^[3]

Epigenetic modification	Disease	Alteration
DNA methylation	Alzheimer's disease	Hypermethylation (NEP)
	Angelman syndrome	Imprinting defect (15q11.2-q13)
	Atherosclerosis	Aberrant methylation
	ATRX syndrome	Aberrant methylation (subtelomeric repeats)
	Diabetes type 1	Aberrant methylation
	Friedrich's ataxia	Hypermethylation (FXN)
	Immunodeficiency, centromeric region instability and facial anomalies syndrome	Aberrant methylation (mutated DNMT3B)
	Multiple sclerosis	Hypomethylation (PADI2)
	Prader-Willi syndrome	Imprinting defect (15q11.2-q13)
	Rett's syndrome	Mutation (MECP2)
	Rheumatoid arthritis	Aberrant methylation (DR3 and L1)
	Systemic lupus erythematosus	Hypomethylation (PRF1, CD70, CD154 and AIM2)

常见甲基化检测方法比较

目前常见的甲基化检测方法有 WGBS、RRBS、850K 芯片、目标区域甲基化捕获等。其中，目标区域甲基化捕获可以目的性检测目标区域的 DNA 甲基化水平和单倍型信息，可以实现单碱基分辨率和高深度测序，同时检测成本可控，在 DNA 甲基化 Marker 筛选和肿瘤早筛等方向有着广泛的应用空间。

表 2. 不同甲基化检测技术比较

技术参数	WGBS	RRBS	850K 芯片	目标区域甲基化捕获
检测物种	不受限	人 / 小鼠	人	不受限
检测原理	基于重亚硫酸盐转化的高通量测序	基于 MspI 酶切和重亚硫酸盐转化的高通量测序	基于重亚硫酸盐转化的芯片检测	基于重亚硫酸盐转化和目标区域捕获的高通量测序
起始量	1~1000 ng	30~1000 ng	250~1000 ng	1~200 ng
是否适用于 FFPE	适用	适用	适用	适用
是否适用于 cfDNA	适用	不适用	不适用	适用
检测 CpG 位点	全基因组范围	覆盖 60% 的 CpG 岛，10~15% 左右的 CpG 位点，约 300 万个 CpG 位点	850K (已知位点，只占所有 CpG 的 3%)	任意感兴趣的区域
检测单倍型	适用	适用	不适用	适用

BisCap[®] 甲基化捕获测序技术

技术介绍

艾吉泰康依托自身的 TargetSeq[®] 杂交捕获测序技术，开发了适用于 cfDNA 等低起始量样本的 BisCap[®] 甲基化捕获测序技术。BisCap[®] 甲基化捕获测序技术可用于 gDNA、FFPE DNA 和 cfDNA 等不同样本类型的目标区域甲基化水平检测，同时在兼顾检测成本的情况下提供更高的测序深度，提高检测的灵敏度和准确性。

技术优势

探针设计理念先进

- 1) 针对正负链 CG 位点进行双态设计，可降低成本并保证甲基化检出率；
- 2) 自动最优序列选择，避开重复序列，确保捕获效率；
- 3) 依据探针序列热力学稳定性调整探针剂量，确保高均一性。

灵活的产品定义

- 1) 目标区域大小 10 kb~100 MB，灵活可控；
- 2) 可根据需求进行区域增加和优化；
- 3) 可对甲基化 marker、CpG 岛、启动子区域、UTR 等区域进行自定义设计。

完整的建库方案

- 1) 针对 cfDNA、FFPE DNA 等低起始量样本，艾吉泰康推荐自研的单链建库试剂盒；
- 2) 针对 gDNA 等较高起始量样本，艾吉泰康推荐自研的双链建库试剂盒；
- 3) 金标准 Bisulfite 转化，转化效率稳定且可有效降低假阳性率。

高度优化的杂交捕获体系

- 1) 自主研发的特异组分 BisCap[®] Enhancer，有效提高捕获效率；
- 2) 高度优化的实验流程，确保高均一性和稳定性；
- 3) 自主研发的接头通用封阻序列，支持多杂方案，进一步降低实验成本。

04

技术路线

BisCap[®] 甲基化捕获测序技术采用 Post-BS 捕获方案，即先构建全基因组重亚硫酸盐文库，再进行目标区域捕获，获得上机文库后进行高通量测序。BisCap[®] 技术路线避免了模板多样性的丢失，适合于 cfDNA、FFPE 等样本量较低、完整性较差的样本。

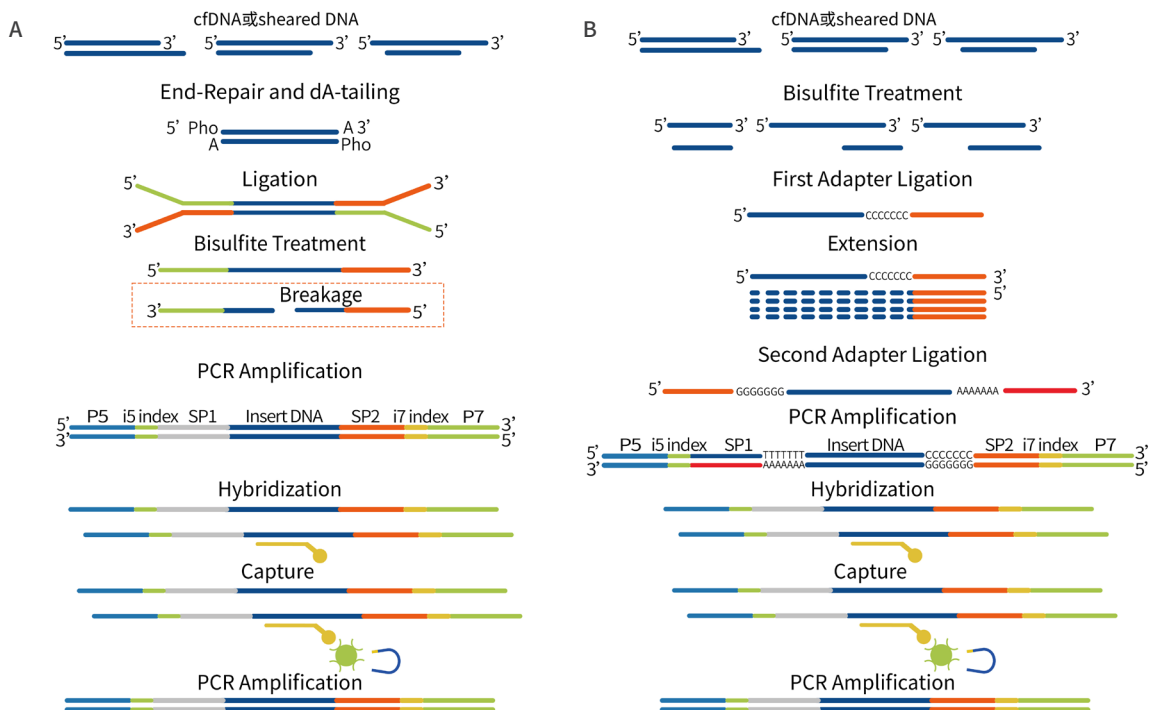


图 3. BisCap[®] 甲基化捕获测序技术双链 (A) 和单链 (B) 建库技术路线图

BisCap® 甲基化捕获定制产品特点 and 优势

BisCap® 探针设计方案

针对正负链 CG 位点进行双态设计，降低成本的同时保证甲基化检出率。



图 4. BisCap® 探针设计方案示意图

基于热力学稳定性的探针优化设计

BisCap® 探针基于热力学稳定性进行叠瓦式设计，根据捕获效率、均一性和覆盖率的需求，选择最佳的探针覆盖方案；同时，针对高 GC 区域和串联重复区域，合理的加密探针和选择侧翼探针的策略；针对基因组同源序列较多的情况，可根据非特异性评估结果及对捕获效率的影响推荐合适的探针设计方案。

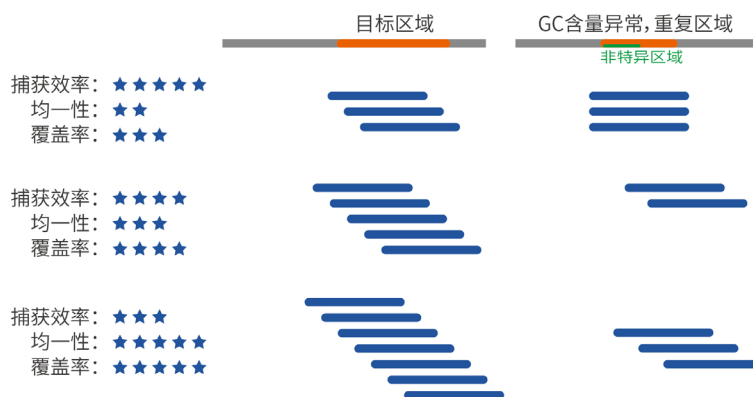


图 5. 基于目标区域的探针设计方案示意图

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

BisCap® 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。

BisCap® 甲基化杂交捕获体系

一管操作，实验流程更简化

BisCap® 甲基化杂交捕获流程中仅需一管操作：首先，将 BisCap® Enhancer 和文库预混后进行浓缩，随后将 BisCap® 杂交试剂及探针预混后直接与浓缩后的文库杂交即可，比需要两步混液的其他流程更简便；其次在漂洗流程中，BisCap® 甲基化杂交捕获体系仅需 Wash Buffer 1 和 TargetSeq One® Wash Buffer 两种漂洗试剂，而其他流程通常需要四种漂洗试剂。

自主研发 BisCap® Enhancer，可有效提高捕获效率

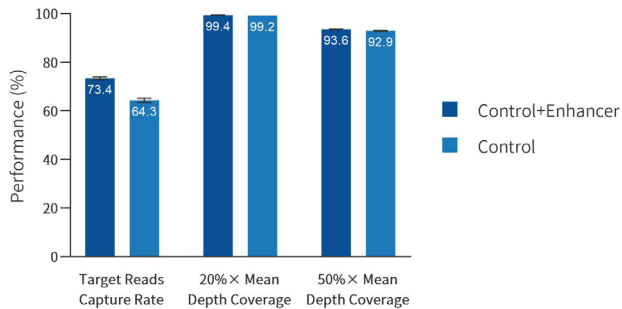


图 6. BisCap® 杂交洗脱体系添加 BisCap® Enhancer 的数据表现。样本为 NA12878 细胞系 DNA，投入 200 ng 进行建库，文库构建采用 BisCap Fast Library Prep Kit 和 IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer (for Illumina)，使用 123 kb Panel 进行捕获，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序。

06

BisCap® Panel 数据表现

单杂和多杂数据表现出色

BisCap® 杂交洗脱体系支持多杂方案，可有效降低成本和工作量，性能表现稳定。

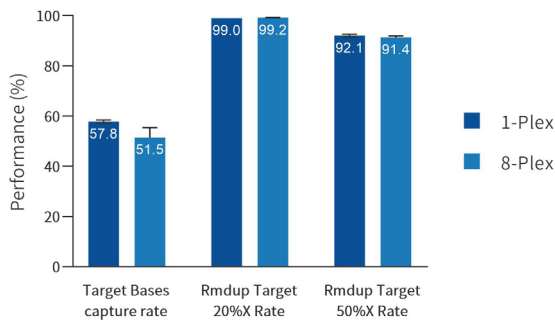


图 7. BisCap® Panel 不同杂交方案的数据表现。实验样本为 gDNA (Promega, 货号 G3041)，投入 200 ng 进行建库，文库构建采用 BisCap Fast Library Prep Kit 和 IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer (for Illumina)，单杂 (1-Plex) 的文库投入量为 750 ng，八杂 (8-Plex) 的文库投入量为 1600 ng (单个文库投入量为 200 ng)，使用 123 kb Panel 进行捕获，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序。

BisCap® 不同大小的定制 Panel 数据优异

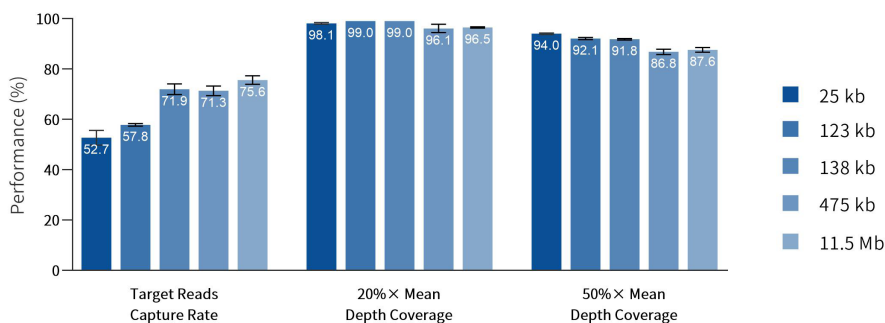


图 8. 不同大小的 BisCap® Panel 数据表现。样本为 gDNA (promega, 货号 G3041)，投入 200 ng 进行建库，文库构建采用 BisCap Fast Library Prep Kit 和 IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer (for Illumina)，采用 BisCap® 既往定制的 Panel 进行捕获，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序。

甲基化捕获一站式解决方案

方案概述

BisCap® 甲基化捕获测序技术可以针对重点关注的 CpG 岛、CpG 位点进行高深度的靶向检测，既能实现高度准确的检测，又能有效控制检测成本，已成为一种超高性价比的研究技术和检测方案。艾吉泰康可为研究人员提供甲基化捕获流程中的建库试剂盒、接头、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。



建库捕获试剂盒方案

甲基化建库方案

- 基于单链连接的建库方案
- 基于 T-A 连接的双链建库方案
- 384 种 UDI 接头

甲基化杂交捕获方案

- 探针（预定义目标区域探针、半定制探针、全定制探针）
- 杂交洗脱试剂（Illumina /MGI 双平台）
- 接头通用封阻序列（Universal Blockers、Illumina /MGI 双平台）

07

自动化捕获方案

核酸提取

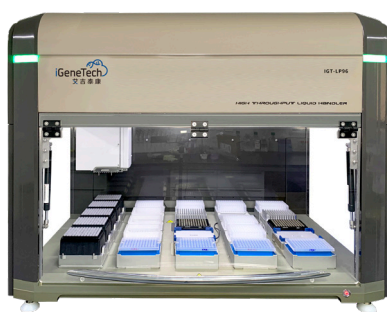
核酸提取工作站 :1.5 h 内完成 96 个样品自动提取纯化



IGT-NP48/96 核酸提取工作站

探针杂交捕获

自动移液工作站：文库取样、试剂分装



IGT-LP96 高通量液体处理工作站

文库质控

酶标仪：文库定量

片段分析仪：文库片段大小分析



BiOptic 全自动核酸蛋白分析系统 (Qsep1/Qsep100/Qsep400)

单链 DNA 建库试剂盒，有效提高文库丰富度和数据有效性

背景介绍

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^[9]。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^[5]，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。

产品介绍

IGT™ ssDNA Library Prep Kit 是一款通用型单链 DNA 建库试剂盒，此试剂盒可以对单链 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。此试剂盒可用于 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。

建库流程

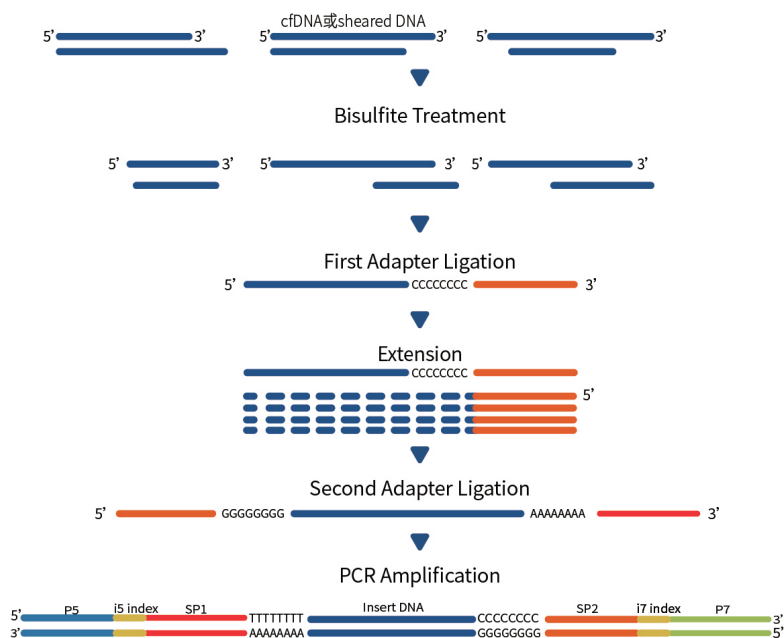


图 9. IGT™ ssDNA Library Prep Kit 的甲基化文库建库流程图

产品优势

- 适合于 cfDNA、FFPE DNA 等低起始量样本，建库起始量低至 1 ng；
- 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；
- 可有效提高文库复杂度，增加测序有效数据；
- 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。

甲基化文库数据表现

不同起始量样本的表现

IGT™ ssDNA Library Prep Kit 搭配 BisCap® 探针杂交捕获体系，适用于不同起始量样本，数据表现优异。

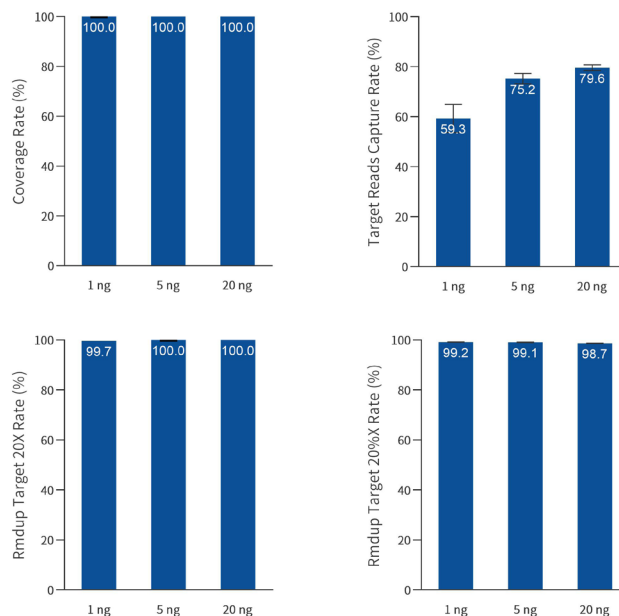


图 10. IGT™ ssDNA Library Prep Kit 试剂盒不同投入量的捕获数据表现。 分别投入 1 ng、5 ng、20 ng cfDNA（样本为 NA12878 细胞系 gDNA，超声打断模拟 cfDNA）进行单链建库，文库构建采用 IGT™ ssDNA Library Prep Kit 和 IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer (for Illumina)，使用 123 kb 的 Panel 进行捕获，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序，测序数据量平均为 1.8 Gb。

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。

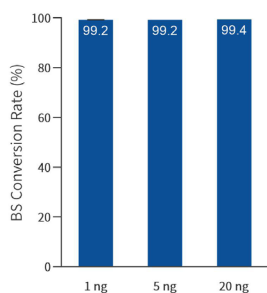


图 11. IGT™ ssDNA Library Prep Kit 试剂盒不同投入量的捕获数据表现。 分别投入 1 ng、5 ng、20 ng cfDNA（样本为 NA12878 细胞系 gDNA，超声打断模拟 cfDNA）进行单链建库，文库构建采用 IGT™ ssDNA Library Prep Kit 和 IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer (for Illumina)，使用 123 kb 的 Panel 进行捕获，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序，测序数据量平均为 1.8 Gb。

DNA 原始分子利用率高

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

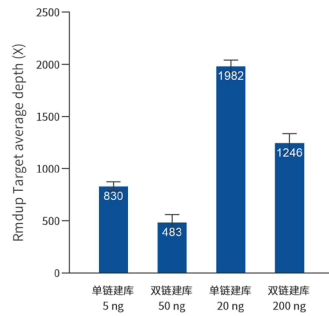


图 12. IGT™ ssDNA Library Prep Kit 和双链 DNA 文库试剂盒的有效深度表现。 样本为 NA12878 细胞系 gDNA，分别投入 5 ng、20 ng、50 ng、200 ng 进行建库，其中 5 ng、20 ng 文库构建采用 IGT™ ssDNA Library Prep Kit 和 IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer (for Illumina) 进行单链建库，50 ng、200 ng 文库构建采用 IGT™ Methyl Fast Library Prep Kit v2.0 和 IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer (for Illumina) 进行双链建库，使用 123 kb 的 Panel 进行捕获，抽取 1 Gb 数据进行有效深度分析。

文库捕获后的甲基化水平重复性表现优异

IGT™ ssDNA Library Prep Kit 搭配 BisCap® 探针杂交捕获体系，重复样本间的甲基化水平一致性优异。

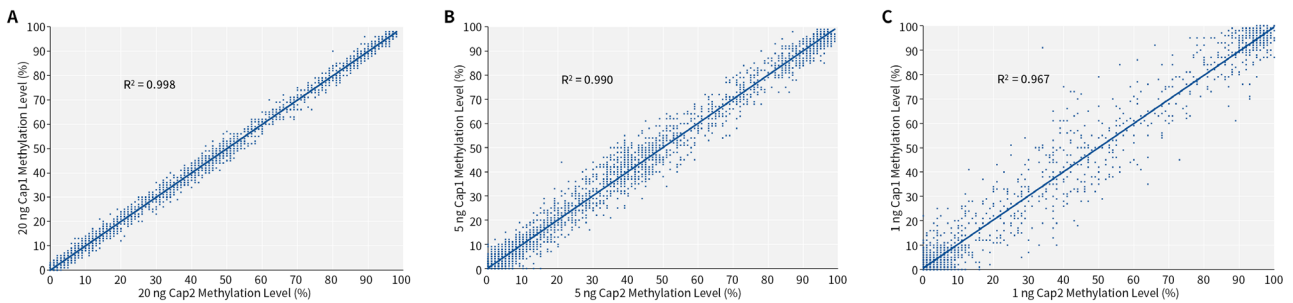


图 13. 单链 DNA 文库试剂盒不同 DNA 投入量的甲基化水平重复性。 分别投入 A: 20 ng, B: 5 ng, C: 1 ng cfDNA (样本为 NA12878 细胞系 gDNA，超声打断模拟 cfDNA) 进行单链建库，文库构建采用 IGT™ ssDNA Library Prep Kit 和 IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer (for Illumina)，使用 123 kb 的 Panel 进行捕获，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序，分析同一样本在不同批次捕获实验中 CpG 位点的甲基化水平重复性。

单链文库和双链文库的甲基化水平一致性表现优异

单链文库检测到的甲基化水平和双链文库甲基化水平高度一致， R^2 达到了 0.99。

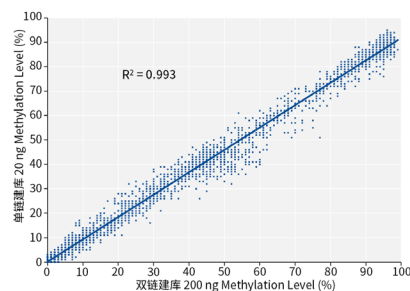


图 14. 单链文库和双链文库试剂盒的甲基化水平相关性。 投入 20 ng (样本为 NA12878 细胞系 gDNA，超声打断模拟 cfDNA) 和 200 ng (样本为 NA12878 细胞系 gDNA) 进行超声打断建库，20 ng 投入量样本的文库构建采用 IGT™ ssDNA Library Prep Kit 和 IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer (for Illumina)，使用 123 kb 的 Panel 进行捕获，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序，测序数据量平均为 1.8 Gb；200 ng 投入量样本的文库构建采用 IGT™ Methyl 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，测序数据量平均为 1.2 Gb。

BisCap® Human CpG Island Panel, 肿瘤甲基化早筛 Marker 研发新方案

背景介绍

在人的基因组上，DNA 甲基化主要发生在 CpG 上。基因组上 CpG 密度高的区域被称为 CpG 岛，CpG 岛在基因的启动子区和第一个外显子区有显著的富集^[10]。CpG 岛的甲基化可以通过调节染色质结构和转录因子来调节相关基因的表达或沉默。研究表明，位于基因转录调控区附近的 CpG 岛的 DNA 甲基化状态常与肿瘤的发生发展密切相关。

产品简介

艾吉泰康基于自主研发的 BisCap® 甲基化捕获测序技术，推出甲基化捕获预定义探针产品 BisCap® Human CpG Island Panel (简称 CGI Panel)。该产品依据最新参考基因组 GRCh38 及补丁序列设计，Panel 大小为 21.2 Mb，覆盖 27,000 个 CpG island，同时，补充覆盖 13 种已商业化应用于临床的甲基化标志物^[11]，可广泛应用于甲基化标志物筛选、肿瘤早筛、早检等方向。

产品设计

全基因组范围 CpG Island 超高覆盖

CGI Panel 根据 UCSC 最新 CpG 岛区域进行设计，覆盖超过 27,000 个 CpG Island (占比全基因组 86% 的 CpG 岛)，CpG Island 区域覆盖 19.8 Mb 以上。

表 3. BisCap® Human CpG Island Panel 在 CpG 位点和 CpG Island 的覆盖情况

	CGI Panel	850K 芯片	WGBS
CpG 位点	2,030,000	850,000	28,000,000
CpG Island	27,000	26,000*	31,400

注：850K 芯片只覆盖 CpG 岛少量的 CpG 位点。

依据最新参考基因组 GRCh38 和补丁序列设计

CGI Panel 根据 GRC 官网最新 Fix patches 和 Novel patches 序列补充探针，能够减少个体 / 群体差异引起的漏检，更有利于甲基化差异区域的检出。

强化已商业化并应用于临床的甲基化标志物区域设计

针对已商业化并应用于临床的 13 个甲基化标志物补充探针，同时在这些甲基化标志物区域上下游各外延 2 kb 进行探针设计，确保甲基化标志物及相关区域的有效检出。

表 4. 已商业化并应用于临床的 13 种肿瘤甲基化标志物所在基因及对应肿瘤类型

甲基化标志物所在基因	肿瘤类型	甲基化标志物所在基因	肿瘤类型
<i>GSTP1</i>	肝癌、前列腺癌、乳腺癌、结直肠癌	<i>TWIST1</i>	结直肠癌、膀胱癌、乳腺癌
<i>APC</i>	胃癌、膀胱癌、乳腺癌、肝癌	<i>OTX1</i>	乳腺癌
<i>RASSF1</i>	肺癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌	<i>ONECUT2</i>	膀胱癌
<i>NDRG4</i>	结直肠癌、胃癌	<i>MGMT</i>	胶质母细胞瘤
<i>BMP3</i>	胃癌、结直肠癌	<i>BCAT1</i>	结直肠癌
<i>SEPT9</i>	宫颈癌、结直肠癌、乳腺癌	<i>IKZF1</i>	结直肠癌
<i>SHOX2</i>	肺癌、结直肠癌		

产品优势

- **超高覆盖：**覆盖超过 27,000 个 CpG Island、203 万 CpG 位点
- **正负链 + 双态探针设计：**针对正负链 CG 位点进行双态设计，可降低成本并保证甲基化检出率
- **适合低起始量样本：**自研单链建库试剂盒配合 BisCap® 甲基化杂交捕获试剂盒，更适合 cfDNA 检测，提高早筛数据有效性
- **性能卓越：**可实现单碱基分辨率，分析精准；捕获流程高度优化，性能指标优异

数据表现

CGI Panel 搭配 BisCap® 甲基化杂交捕获体系，在不同样本类型中均表现优异

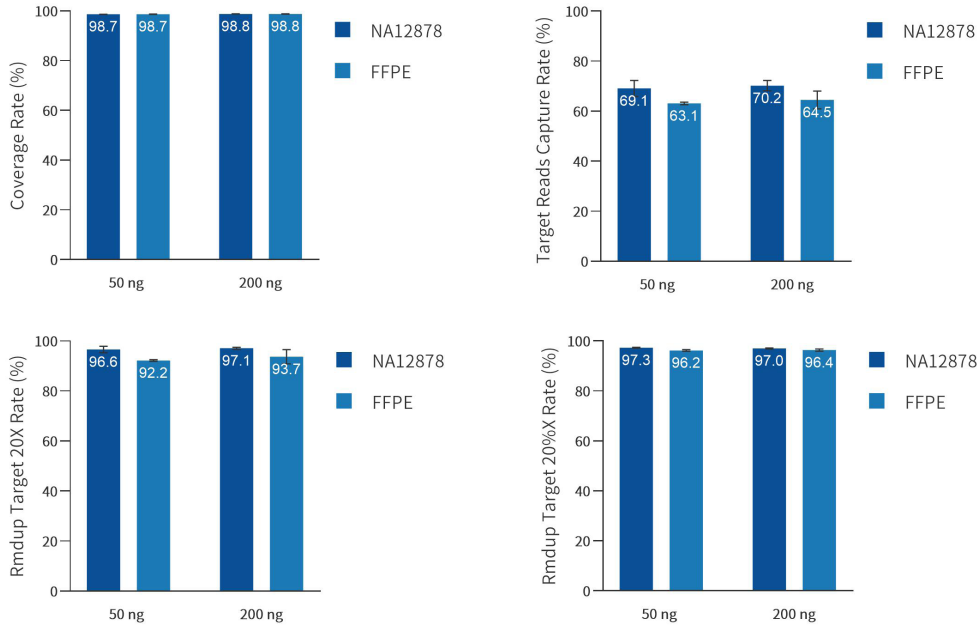


图 15. 不同样本类型在 BisCap® Human CpG Island Panel 的数据表现。样本为 NA12878 和 FFPE DNA，分别投入 50 ng、200 ng 进行建库，文库构建采用 IGT™ Methyl Fast Library Prep Kit v2.0 和 IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer (for Illumina)，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序，测序数据量约为 8.6 Gb。

Bisulfite 转化方案，数据准确性和实验稳定性更高

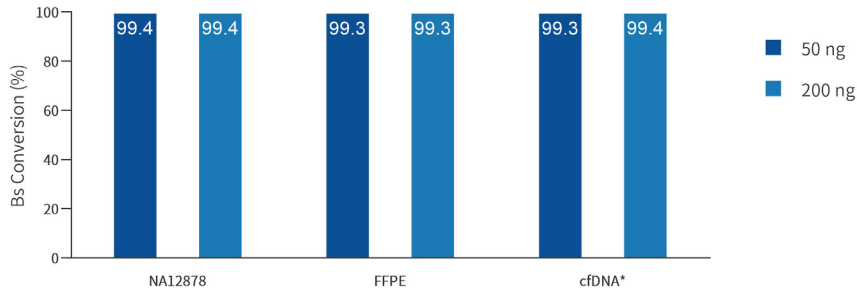


图 16. 不同样本类型在 BisCap® Human CpG Island Panel 中的转化率表现。样本为 NA12878、FFPE DNA 和 cfDNA*（由 NA12878 打断模拟），分别投入 5 ng、20 ng、50 ng、200 ng 进行重亚硫酸氢盐法转化建库，使用 CGI Panel 捕获，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序，测序数据量平均为 8.6 Gb。

CGI Panel 搭配艾吉自研单链建库试剂盒，更适合 cfDNA 早筛检测

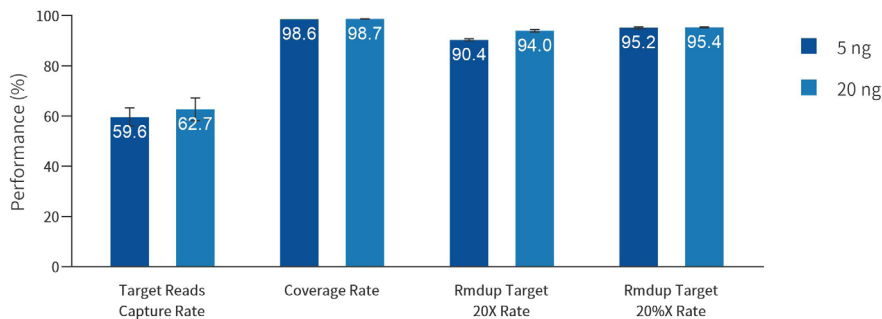


图 17. BisCap® Human CpG Island Panel 搭配单链建库试剂盒的数据表现。样本为 NA12878 模拟打断的 cfDNA 样本，分别投入 5 ng、20 ng 进行单链建库，文库构建采用 IGT™ ssDNA Library Prep Kit 和 IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer (for Illumina)，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序，测序数据量平均为 8.6 Gb。

CGI Panel 甲基化水平与 WGBS 相关性高

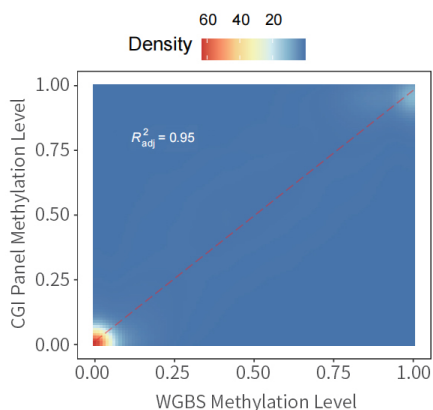


图 18. BisCap® Human CpG Island Panel 与 WGBS 的相关性比较。 样本为 NA12878 细胞系 DNA，投入 200 ng 进行建库，文库构建采用 BisCap Fast Library Prep Kit v2.0 和 IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer (for Illumina)，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序。同时对预文库进行全基因组甲基化测序 120 Gb 和捕获后文库测序 10 Gb，分析 CGI Panel 和 WGBS 中 CpG 位点甲基化水平的相关性。

CGI Panel 的重复性表现优异

同时，将不同捕获反应的 CGI panel 数据进行相关性分析，DNA 甲基化捕获技术检测 DNA 甲基化水平的技术重复性很好， R^2 达到了 0.99。

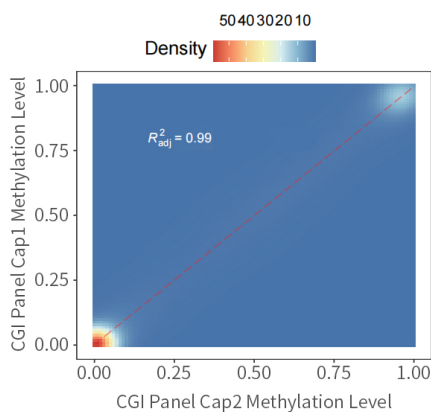


图 19. BisCap® Human CpG Island Panel 的重复性。 样本为 NA12878 细胞系 DNA，投入 200 ng 进行建库，文库构建采用 BisCap Fast Library Prep Kit v2.0 和 IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer (for Illumina)，将相同预文库在不同捕获池中进行杂交捕获，NovaSeq 6000 平台 PE150 测序 10 Gb，分析同一样本在不同批次捕获实验中 CpG 位点的甲基化水平重复性。

生产平台介绍

生产平台介绍

艾吉泰康于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。



14

积累的项目经验

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。

严格的质控流程

艾吉泰康针对每一款定制 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。

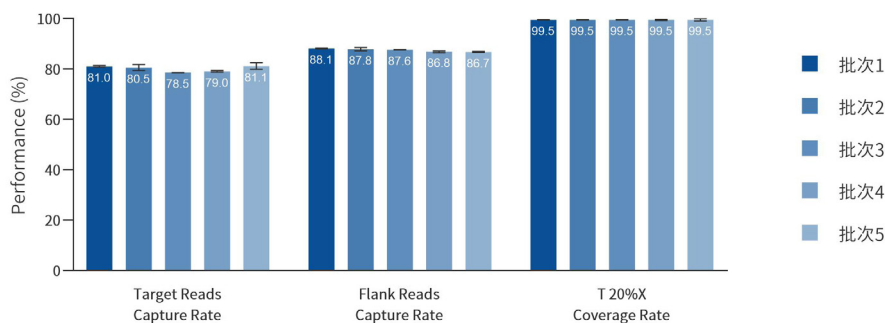


图 20. 艾全外® V3 探针连续合成批次的质控结果

服务流程

定制周期

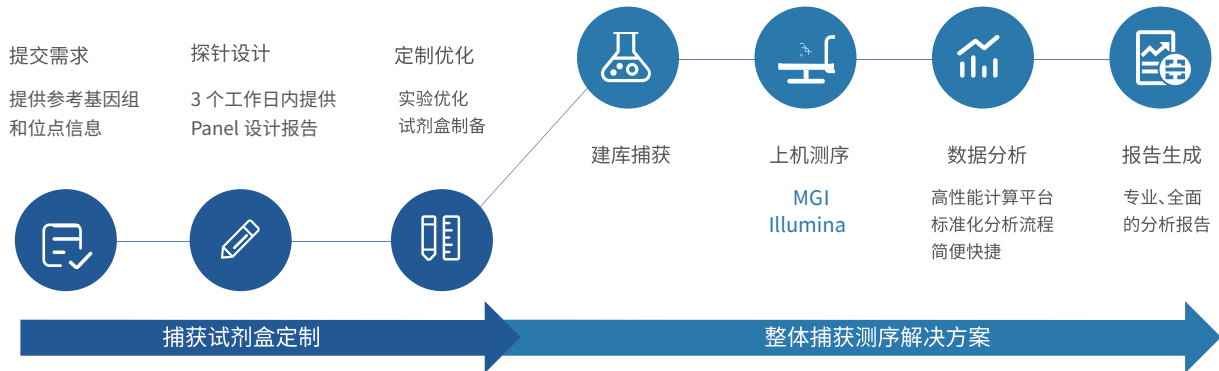
20 workdays

Panel 定制合成、试剂盒制备

10 workdays

标准品测试

定制流程



CDMO 服务

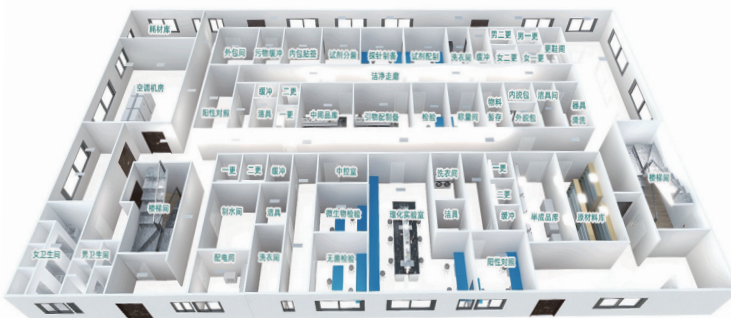


图 21. 艾吉泰康 GMP 体外诊断试剂生产车间鸟瞰图

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。

参考文献

1. Strichman-Almashanu L Z , Lee R S , Onyango P O , et al. A genome-wide screen for normally methylated human CpG islands that can identify novel imprinted genes.[J]. *Genome Research*, 2002, 12(4):543-554.
2. 图片来源 https://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA_methylation.svg
3. Esteller M . Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps.[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2007, 8(4):286-298.
4. Fece D , Corcoran R B . Methylation in cell-free DNA for early cancer detection[J]. *Annals of Oncology*, 2018.
5. Heyn H , Esteller M . DNA methylation profiling in the clinic: applications and challenges.[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2012, 13(10):679.
6. Diego M , Ann M K , Andrew G , et al. Epigenetic Differences in Cortical Neurons from a Pair of Monozygotic Twins Discordant for Alzheimer's Disease[J]. *Plos One*, 2009, 4(8):e6617.
7. Hegi M E , Diserens A C , Gorlia T , et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma.[J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(10):997.
8. Brock M V , Hooker C M , Ota-Machida E , et al. DNA Methylation Markers and Early Recurrence in Stage I Lung Cancer[J]. *Massachusetts Medical Society*, 2008(11).
9. Wan J , Massie C , Garcia-Corbacho J , et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2017, 17(4):223.
10. Deaton AM, Bird A. CpG islands and the regulation of transcription. *Genes Dev.* 2011 May 15;25(10):1010-22.
11. Koch A , Joosten S C , Feng Z , et al. Analysis of DNA methylation in cancer: location revisited[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2018, 15(7).

附录：艾吉泰康甲基化试剂盒产品信息

预定义目标区域探针

产品名称	规格	货号
BisCap® Human CpG Island Panel	16 rxn/96 rxn	PB3000231/PB3000232

建库试剂盒

产品名称	规格	货号
IGT™ ssDNA Library Prep Kit	16 rxn/96 rxn	C10911/C10912
IGT™ Methyl Fast Library Prep Kit v2.0	16 rxn/96 rxn	B30011/B30012

接头和扩增引物

产品名称	规格	货号
IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer 1-16 (for Illumina, tube)	16*1 rxn	B30061
IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer 1-96 (for Illumina, plate)	96*1 rxn	B30022
IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer 97-192 (for Illumina, plate)	96*1 rxn	B30032
IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer 193-288 (for Illumina, plate)	96*1 rxn	B30042
IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer 289-384 (for Illumina, plate)	96*1 rxn	B30052
IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer 1-16 (for MGI, tube)	16*1 rxn	B30161
IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer 1-96 (for MGI, plate)	96*1 rxn	B30172
IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer 97-192 (for MGI, plate)	96*1 rxn	B30182
IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer 193-288 (for MGI, plate)	96*1 rxn	B30192
IGT™ Methyl Adapter & UDI Primer 289-384 (for MGI, plate)	96*1 rxn	B30202
IGT™ ssDNA Adapter & UDI Primer 1-16 (for Illumina, tube)	16*1 rxn	C10861
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

BisCap® 甲基化杂交捕获试剂盒

产品名称	规格	货号
TargetSeq One® BisCap® Hyb & Wash Kit (for Illumina)	16 rxn/96 rxn	B30121/B30122
TargetSeq One® BisCap® Hyb & Wash Kit (for MGI SI)	16 rxn/96 rxn	B30131/B30132
TargetSeq One® BisCap® Hyb & Wash Kit (for MGI DI)	16 rxn/96 rxn	B30141/B30142

TargetSeq® 通用封阻序列

产品名称	规格	货号
TargetSeq® Universal Blocking Oligo (for Illumina)	16 rxn/96 rxn	C80491/C80492
TargetSeq® Universal Blocking Oligo (for MGI DI)	16 rxn/96 rxn	C80521/C80522
TargetSeq® Eco Universal Blocking Oligo (for Illumina)	16 rxn/96 rxn	C80501/C80502
TargetSeq® Eco Universal Blocking Oligo (for Illumina ssDNA Library)	16 rxn/96 rxn	C80791/C80792
TargetSeq® Eco Universal Blocking Oligo (for Illumina NXT)	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



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：PMM220904

官方微信

