

Agilent SureSelect^{XT} 人甲基化测序系统



目 录

1 技术简介	2
2 技术特点	2
优势	2
测序类型	3
3 技术流程	3
4 数据分析	4
5 技术参数	5
6 样本要求	8
7 参考文献	8



NGS 靶向序列捕获
SURESELECT^{XT}
人甲基化测序系统
更快发现表观遗传特征



1 技术简介

安捷伦公司推出的首个全面的甲基化发现系统，适用于疾病研究的 DNA 甲基化靶向序列捕获产品，其是基于液相杂交，可以分析人类基因组中低甲基化与过度甲基化的胞嘧啶位点的独特研究工具。该技术结合亚硫酸盐测序技术，其作为 DNA 甲基化研究的黄金标准，也是第一种可以全面研究 DNA 甲基化的发现系统。

SureSelect^{XT} 人甲基化测序 (Human Methyl-Seq) 靶向序列捕获平台为甲基化基因组区域研究提供了具有**单碱基分辨率**的高度可靠且高效的方法。可帮助研究人员关注那些已知甲基化可影响基因调节的区域： CpG islands、 CpG island shores、 CpG island shelves、 undermethylated 区域、 启动子及差异性甲基化区域(DMR)。

现有产品包括目录人甲基化测序捕获设计以及**小鼠和大鼠**甲基化测序设计。还可以用定制化甲基化测序设计附带某些工作流程改进， 轻易实现靶向任何目的区域的灵活性（从< 100 kb 至 > 100 Mb）。

- 通过检测单独的 CpG 可独具特色地提供比甲基化芯片更多的信息
- 相比全基因组重亚硫酸盐测序，可提高通量并降低成本
- 可发现限制性内切酶及免疫沉淀或 SNP 相关方法所不能检测的甲基化区域

2 技术特点

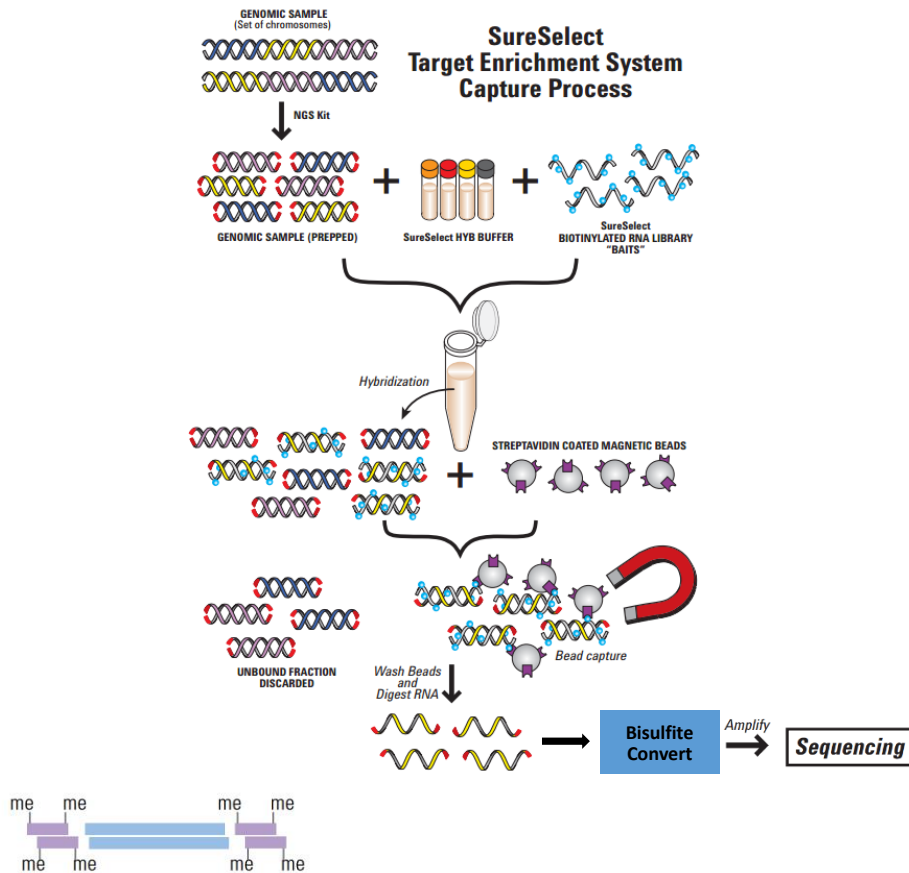
优势

- 84 Mb 设计覆盖 **370 万** CpG 位点
- 不依赖于甲基化状态的探针
- 高灵敏度，分辨率可达到**单个碱基**
- 提高通量并降低成本
- 与现有甲基化方法相比，可降低偏差 (bias)

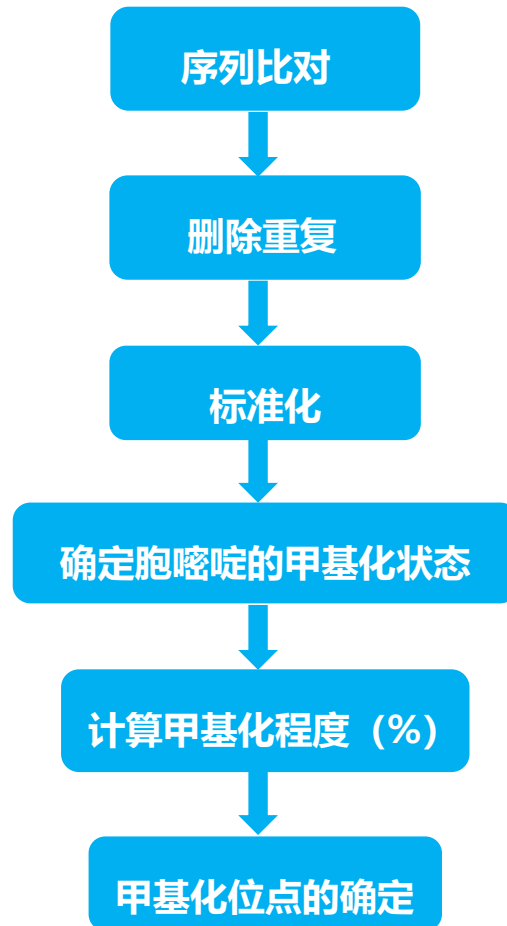
测序类型

- CpG 岛
- GENCODE 启动子
- 癌症、组织特异性 DMR，或以下类型的调控序列
 - CpG Islands, shores/shelves(± 4 kb)
 - 增强子
 - Ensemble 调控区域
 - DNase I 高敏感位点

3 技术流程



4 数据分析



使用 Bismark 软件^[1]用于测序数据的分析

- 快速实现甲基化水平、CpG 区域覆盖、读长对齐和碱基质量的可视化
- 通过单碱基对分辨率鉴定甲基化状态并利用特定目标基因重叠，获得深入的生物学见解
- 发现 DMR 和 DMC 的基因和基因间效应，并将其同 QPCR、ChIP 测序和 RNA 测序结果相关联

5 技术参数

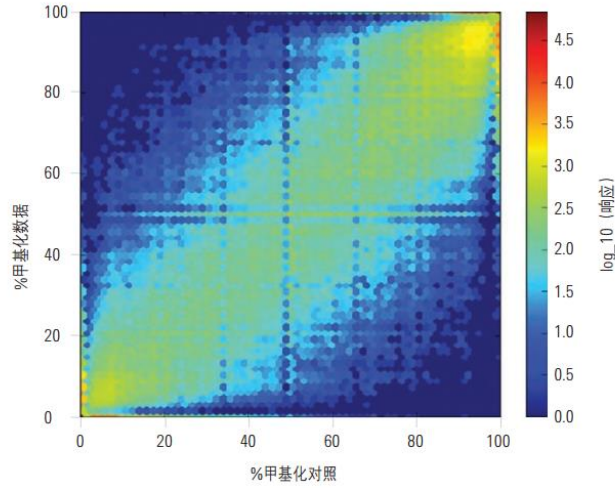


图 6-1. SureSelect^{XT} 甲基化测序数据与全基因组重亚硫酸盐测序 (WGS) 数据具有高度相关性 ($R = 0.93$)

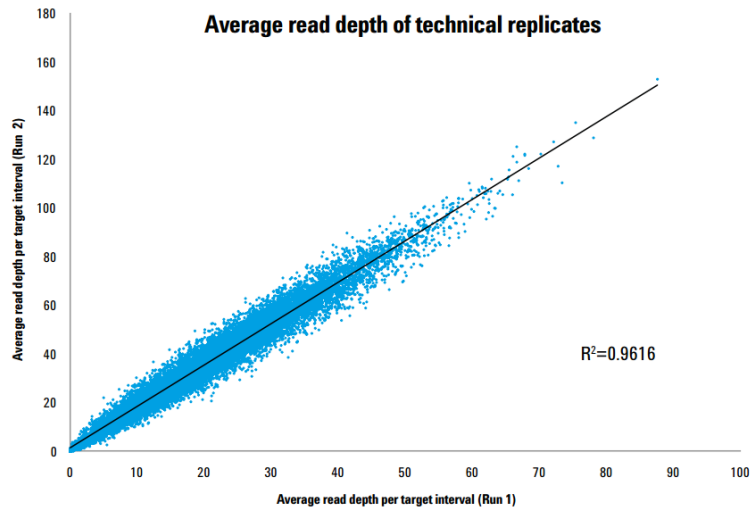


图 6-2. SureSelect^{XT} 甲基化测序在目标区域测序深度的技术重复率高($R=0.9616$)

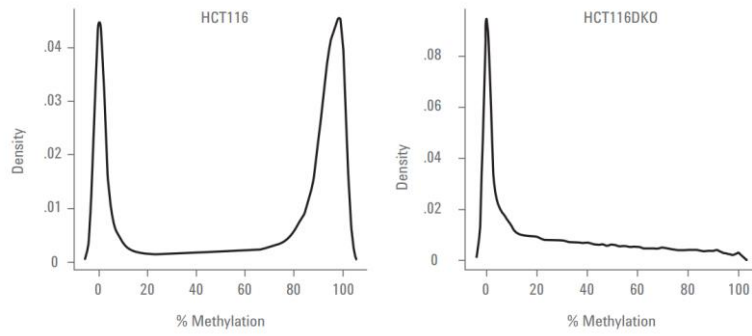


图 6-3. 通过比较 HCT116（结肠癌细胞）和 HCT116DKO（敲除 DNMT1&DNMT3b 的结肠癌细胞株）的 DNA 甲基化程度差异可知，SureSelect^{XT} 人甲基化测序甲基化捕获测序技术具有非常高的灵敏度和准确度

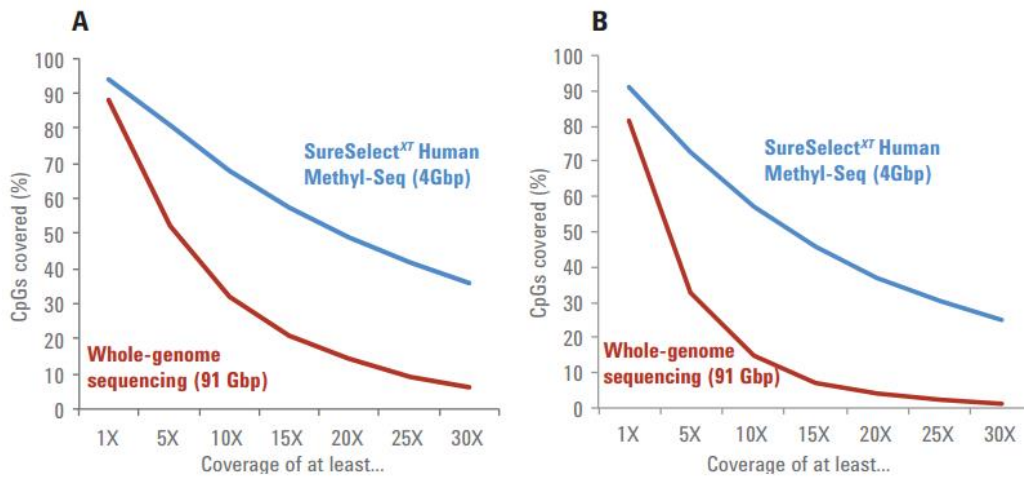


图 6-4. SureSelect^{XT} 甲基化捕获测序技术与全基因组测序相比，其随着覆盖率的升高，更多可能的发现新甲基化位点

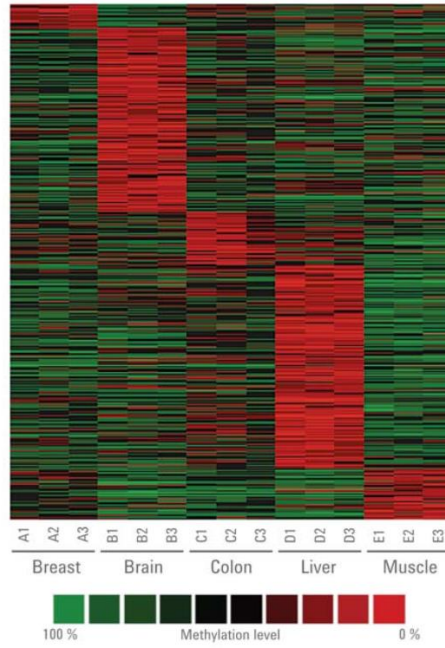


图 6-5. SureSelect^{XT} 甲基化捕获测序技术用于确定 5 个不同正常组织中的差异甲基化区域

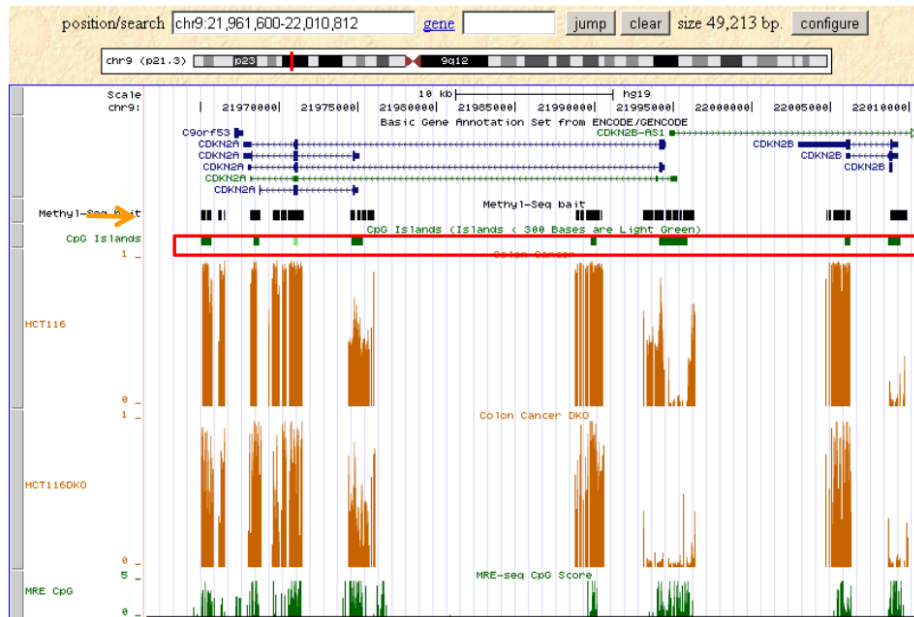


图 6-6. SureSelect^{XT} 甲基化捕获测序用于比较正常组织与癌症组织的差异甲基化位点在单碱基分辨率上的差异

6 样本要求

样品类型：人、小鼠和大鼠；

样品纯度：OD 260/280 值应在 1.8~2.0 之间；RNA 应去除干净；

样品浓度：使用 Qubit 准确定量 DNA 浓度；

样品总量：每个样品总量不少于 250ng。

7 参考文献

[1] Bismark: a flexible aligner and methylation caller for Bisulfite-Seq Applications. *Bioinformatics*, 2011,27:1571-1572.



地址：上海张江高科技园区李冰路 151 号 (201203)

技术服务热线：800-820-5086 / 400-880-5086

技术服务网站：<http://www.ebioservice.com>

技术支持邮箱：customersupport@shbiochip.com