



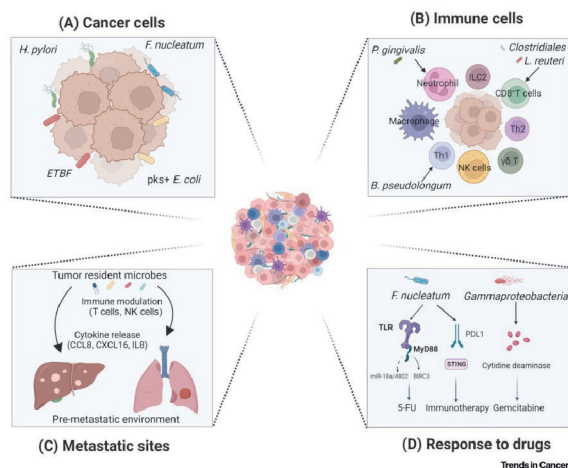
# 天昊生物

## 肿瘤内生菌绝对拷贝数检测



## 肿瘤内生菌的作用及意义

- ◆ 肿瘤内生菌影响癌症和转移的发病机制；
- ◆ 抗肿瘤免疫可以通过肿瘤内生菌调节；
- ◆ 化疗或免疫治疗的疗效可能受到肿瘤内生菌的影响；
- ◆ 肿瘤内生菌可用于抗癌治疗。



肿瘤内生菌对 (A) 癌细胞、(B) 免疫、(C) 转移和 (D) 药物反应的影响

## 传统检测方法的“技术痛点”

虽然有研究发现，肿瘤的发生发展过程及治疗预后效果，与肿瘤组织细胞内的微生物种类和含量息息相关。但是通过常规的微生物扩增子测序等方法，仍然无法获得理想的检测结果，这是因为：

- ◆ 常见肿瘤组织内生菌含量低；
- ◆ 传统方法检测灵敏度低、特异性和稳定性较差；
- ◆ 常规方法无法准确进行绝对定量；
- ◆ 存在严重的宿主细胞干扰。



## 一、技术介绍

为了更好的满足研究者对肿瘤内生菌检测的需求,弥补传统检测方法的不足,天昊生物结合多年在微生物组绝对定量检测上的丰富经验,正式推出了“肿瘤内生菌绝对拷贝数检测解决方案”。本方案采用16S qPCR绝对定量 + 16S rDNA扩增子测序策略,可以根据qPCR绝对定量和16S rDNA扩增子相对定量测序结果,计算样品中微生物的绝对丰度。

该技术方案很好的解决了因肿瘤组织微生物含量低,宿主干扰严重导致的检测不准确问题,具有更高的检测灵敏度、特异性和稳定性,为肿瘤内生菌研究提供了更加准确、更加可靠的检测结果。

目前,肿瘤内生菌已经成为研究新热点。例如2022年发表在《Cell》上的文章,就通过对肿瘤内生菌检测技术的优化,首次发现了乳腺癌组织中的内生菌在肿瘤的定植转移过程中,发挥了关键作用,对未来的肿瘤治疗提供了重要启示。



CellPress

Cell

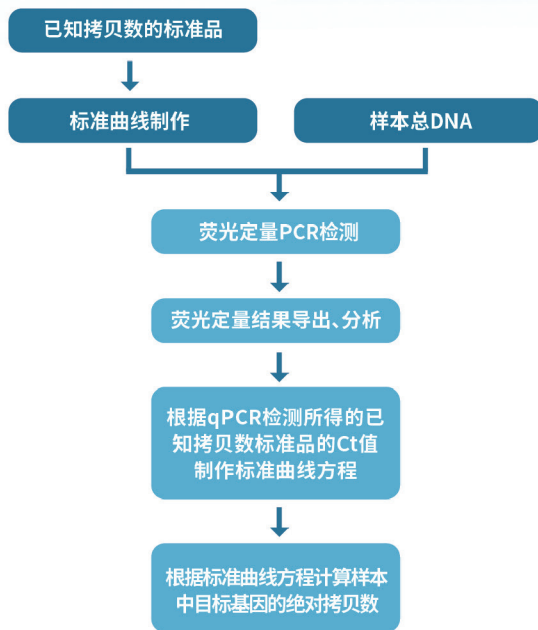
### Article

## Tumor-resident intracellular microbiota promotes metastatic colonization in breast cancer

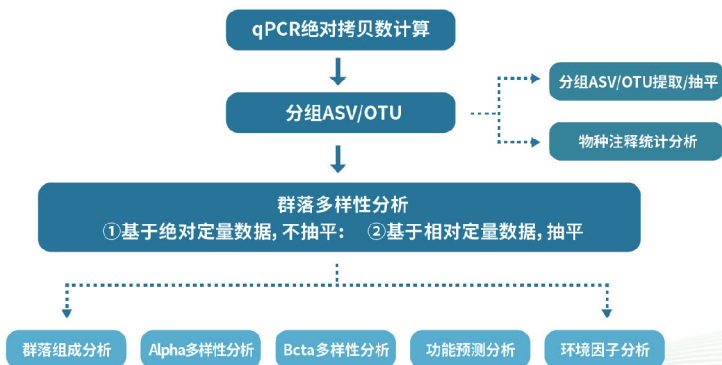
Aikun Fu,<sup>1,2,3,6,10</sup> Bingqing Yao,<sup>7,1,2,3,10</sup> Tingting Dong,<sup>7,1,2,3,10</sup> Yongyi Chen,<sup>8</sup> Jia Yao,<sup>9</sup> Yu Liu,<sup>9</sup> Hang Li,<sup>5</sup> Huiru Bai,<sup>7,1,2,3</sup> Xiaoqin Liu,<sup>1,2,3,7</sup> Yue Zhang,<sup>7,1,2,3</sup> Chunhui Wang,<sup>1,2,3,4</sup> Yajing Guo,<sup>1,2,3</sup> Nan Li,<sup>5</sup> and Shang Cai<sup>1,2,3,4,6,11,\*</sup>



## 二、技术路线



16S qPCR实验技术路线



16S rDNA扩增子测序及与qPCR绝对定量检测数据的联合分析(天昊云)



### 三、技术优势

1、qPCR绝对定量检测采用的是TaqMan探针法而不是常见的SYBR green方法,可以获得更高特异性结果。

2、qPCR绝对定量检测,采用细菌16S rDNA最佳的通用引物。

3、本实验16S rDNA扩增子测序采用的是高特异性、高灵敏度的扩增体系,极大程度上降低了宿主的非特异性扩增。

4、目前我们的“天昊云”在线分析平台,已经上线配套的分析工具,便于项目客户对获得的qPCR绝对拷贝数和扩增子测序结果进行在线分析,真正实现了生信分析的自主、高效、做到二次分析便捷高效。



### 四、技术参数

#### 1、16S TaqMan qPCR部分:

提供qPCR原始数据,以及导出的Ct值数据,结果达到:

标准曲线梯度:拟合系数: $R^2 \geq 0.99$ ; 3技术重复 $CV\% < 5\%$  ( $Ct < 30$ )。

#### 2、16S扩增子测序部分:

提供PE250的fastq数据,以及相对定量测序分析内容,结果达到:

总数据量  $\geq 5$ 万reads; Clean data  $Q30 \geq 80\%$ 。

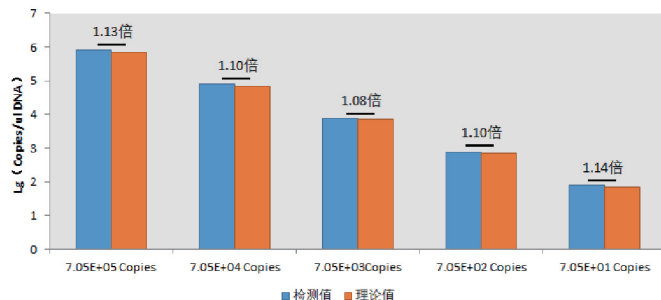


### 五、样品类型

本方案检测样本主要针对肿瘤组织及DNA进行检测,可以是常规的新鲜冷冻组织样本,也可以是石蜡样本(未经染色),针对其他特殊样本类型,可联系我们具体咨询。

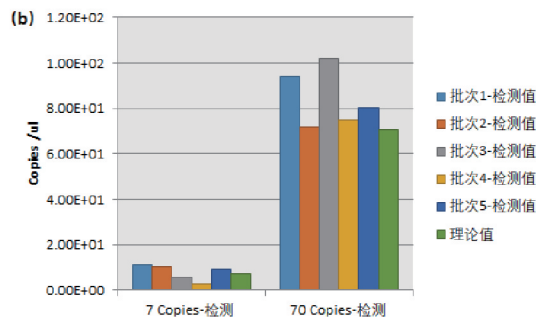
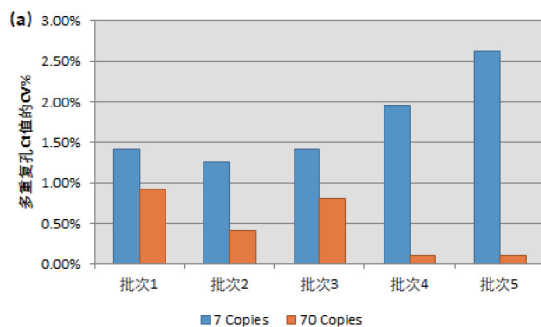


## 六、部分数据展示



不同拷贝数样本16S qPCR检测值与理论值的差异 (准确性)

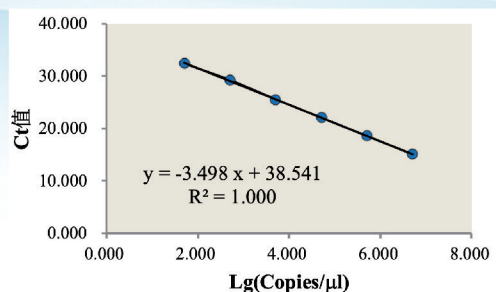
(说明:图中横坐标为检测体系中16S qPCR检测区域的理论拷贝数;不同梯度拷贝数的样本其检测值与理论值的差异都很相近,检测体系准确性良好)



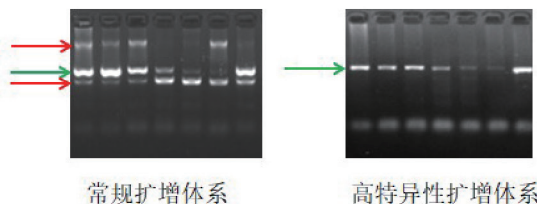
(a) 低拷贝数样本多批次检测Ct值的CV%值 (重复性)

(b) 多批次拷贝数检测值 (稳定性)

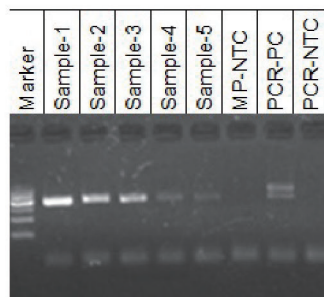
(说明:a) 2个低拷贝数样本“7 Copies”和“70 Copies”在不同批次实验中,每批次实验重复孔的CV%值都在质控范围内;同时提示,当样本中目标片段的拷贝数低于10 Copies时(图a中的7 Copies样本),其复孔Ct值的CV%相对偏大。b) 2个低拷贝数样本“7 Copies”和“70 Copies”在不同批次实验中的检测值均与理论值较接近,低拷贝数样本检测结果在不同批次间稳定性高。)



16S qPCR检测标准曲线及方程 (说明:  $R^2=1.000$ , 说明标准曲线拟合良好)



小鼠肠道组织16S 2种不同扩增体系扩增产物电泳图  
(说明: 绿色箭头指示目标区域; 红色箭头指示非特异性扩增杂带。结果说明本方案扩增体系扩增特异性好。)



大鼠牙髓样本16S扩增结果  
(说明: MP-NTC: MP试剂盒抽提空白对照; PCR-PC: PCR实验阳性对照; PCR-NTC: PCR实验空白对照。结果说明本方案扩增体系扩增特异性好。)

## 七、参考文献

1. Fu A, Yao B, Dong T, et al. Tumor-resident intracellular microbiota promotes metastatic colonization in breast cancer. *Cell*, 2022, 185(8): 1356-1372. e26.
2. Yao B, Dong T, Fu A, et al. Quantification and characterization of mouse and human tissue-resident microbiota by qPCR and 16S sequencing. *STAR protocols*, 2022, 3(4): 101765.

## 天昊微生物领域技术服务内容：

- Accu16S®细菌绝对定量测序
- AccuITS™ 真菌绝对定量测序
- 常规 16S/18S/ITS 扩增子测序
- 微生物功能基因扩增子测序
- 宏基因组测序
- 宏转录组测序
- 细菌、真菌基因组重测序
- 微生物qPCR绝对定量
- 肿瘤内生菌绝对拷贝数检测



## 关于天昊

上海天昊生物科技有限公司，2008年4月创建于上海浦东张江高科技园区，上海市高新技术企业。天昊生物建立了整套完备的实验室管理体系和标准流程，为国内外基因生物领域科研机构、医学院校以及生物制药企业提供精确、高效的基因检测分析服务。

天昊生物具有极强的技术研发实力，研发了多项具有国际水平的专利技术，包括多种SNP分型和拷贝数检测技术、微生物16S扩增子绝对定量技术。同时利用专利自主研发的AccuCopy®、CNVplex®、SNPscan®、iMLDR®、EasyTarget®、FastTarget®、SNPseq®、CNVseq®、MethylTarget®和SSRseq®等全新技术为客户提供灵活定制科研项目检测服务。在2018年荣获“浦东新区企业研发机构”称号，2023年荣获“上海市专精特新中小企业”称号。

天昊生物遗传分析中心借助多名长期从事基因及遗传分析的领域专家构成的专家咨询团队，专业团队结合准确、高效、经济的科研技术服务体系，致力于长期为分子生物学及医学遗传学领域的研究者提供高质量的科研策略咨询、实验技术服务和遗传数据分析，帮助广大科研人员获得更为优质的科研成果。



客户服务中心



微信公众号



官方网站



400-065-6886

021-50802060



[www.geneskybiotech.com](http://www.geneskybiotech.com)



上海市浦东新区康桥路787号9号楼