

康健基因(HGT)分析软件搭配DNBSEQ 测序平台赋能BRCA1/2变异检测

本应用简报表明康健基因HGT生信分析平台可完美适配华大智造DNBSEQ测序平台以实现BRCA1/2基因变异和致病性情况的准确鉴定。

推荐应用：肿瘤组学(BRCA1/2检测)

推荐机型：DNBSEQ-E25, DNBSEQ-G99, MGISEQ-2000

• 测序数据质量高

DNBSEQ测序技术具有高准确性, 低重复率以及低标签跳跃率等重要特性。

• HGT平台完美适配DNBSEQ平台

康健基因的HGT生信分析软件可在约1小时内完成对DNBSEQ测序平台下机数据的BRCA1/2变异分析。

• 可匹配自动化操作

华大智造可为实验流程提供自动化解决方案, 能够极大的节约人工成本并提高效率。



背景介绍

*BRCA1/2*编码的蛋白质在DNA损伤修复、细胞周期控制以及维持染色体稳定性方面发挥着重要的作用¹，与乳腺癌和卵巢癌的发病机制密切相关²。此外，*BRCA1/2*的突变同样与卵巢癌、前列腺癌和胰腺癌等多种癌症的患病风险增加有关^{3,4}。携带*BRCA1/2*突变的肿瘤细胞对DNA损伤剂如链间交联剂(铂或烷化剂)、拓扑异构酶II抑制剂(蒽环类药物)或聚二磷酸腺苷核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)抑制剂等表现出较高的敏感性^{5,6,7}，这些DNA损伤剂或可作为治疗*BRCA1/2*致病突变携带患者的靶向药物⁸。*BRCA1/2*基因突变检测在相关癌症风险评估、早期诊断以及个性化治疗中具有极其重要的临床价值。

康健基因(My HealthGenes, HGT)开发了一款针对*BRCA1/2*基因检测的生信分析方案：该方案通过将测序信息与临床信息数据库ClinVar和InterVar进行比对⁹，可对不同变异进行分析和注释，并参考ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics)分类标准对变异进行分级，为临床决策提供科学依据。华大智造基于DNBSEQ技术推出的测序平台拥有高准确度和灵敏度、超低重复率、低标签跳跃率等优势。主流测序仪有DNBSEQ-G99、MGISEQ-2000、DNBSEQ-T7等，可满足医学、科研、公卫、食品安全等相关领域的研究需求。

为测试该生信方案与DNBSEQ测序平台的兼容性，本应用简报利用某品牌*BRCA1/2*建库试剂盒对DNA标准品完成文库构建，并在DNBSEQ-E25、DNBSEQ-G99或MGISEQ-2000上完成测序工作；下机数据利用HGT生信分析平台完成数据分析过程。测试结果表明：HGT平台可完美适配DNBSEQ测序平台，产出高质量的测序数据且对*BRCA1/2*基因的变异和致病情况进行准确鉴定。该组合方案可为乳腺癌、卵巢癌等癌症研究提供强有力的工具支撑。

材料与方法

样本制备

本研究所用 DNA 样本为采购自 Horizon Discovery (HD) 公司的 HD793 和 HD795 DNA 标准品。此标准品涵盖 13 个经过验证的 *BRCA1* 和 *BRCA2* 胚系突变和体细胞突变 (表 2,3)。

文库制备与测序

利用某品牌*BRCA1/2* 建库试剂盒进行文库制备，所得文库在制备成DNA纳米球 (DNB) 后在 DNBSEQ-E25/DNBSEQ-G99/MGISEQ-2000 上进行双端150bp (PE150)的测序。

生物信息学分析

本研究使用HGT生信分析软件对测序数据进行生物信息学分析后可直接生成临床可视化报告(图 1)。HGT生信分析流程如下：测序下机FASTQ数据被上传到HGT平台后，经过二级分析(数据比对

和变异检测)和三级分析(变异注释)；随后根据 ACMG分类列出致病性变异(Pathogenic, P)，可能致病的变异(Likely pathogenic, LP)，良性变异(Benign, B)以及可能良性的变异(Likely Benign, LB),意义不明的变异(Variants of uncertain significance, VUS), 并列举出临床相关药物。

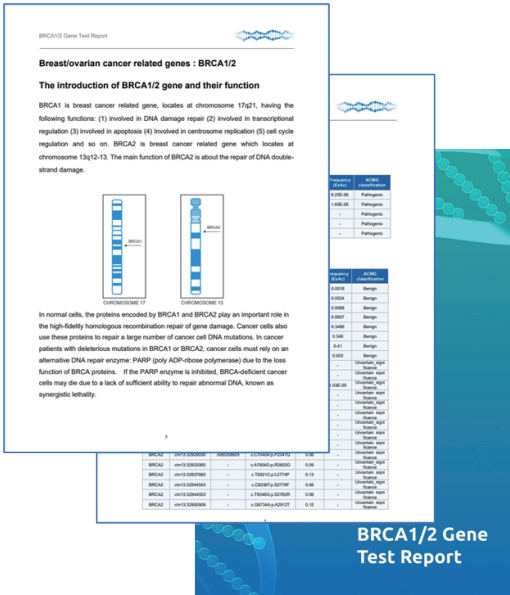
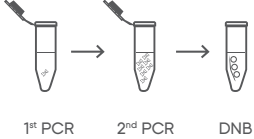


图1. 康健基因*BRCA1/2* 基因检测报告。

样本采集	文库制备(4~6 h)	测序(~12h-50 h)	结果分析(~1 h)
采购自Horizon Discovery (HD)公司的HD793和HD795 gDNA标准品	 BRCA1/2 单/双标签建库试剂盒	 或  或  DNBSEQ-E25 (PE150, ~20h) DNBSEQ-G99 (PE150, ~12h) MGISEQ-2000 PE150 (FCS), ~31h PE150 (FCL), ~50h	 第三方生信分析软件分析及临床报告产出

结果

DNBSEQ平台测序数据质量高

测序质量对于确保 *BRCA1/2* 基因的准确性检测至关重要。本测试基于HD793和HD795所获靶向捕获文库在DNBSEQ-E25/DNBSEQ-G99/MGISEQ-2000上进行测序的下机数据质量高，Q30均达90%以上；且数据的比对率(Mapping rate)($\geq 99\%$)和中靶率(Target rate)($\geq 96\%$)均较高(表1)，满足后续的生信分析要求。

HGT分析平台可准确检测*BRCA1/2*变异

所获测序数据使用HGT软件进行生信分析，对标准品中的13个已知 *BRCA1/2* 突变位点进行检测。三款测序仪DNBSEQ-E25、DNBSEQ-G99以及MGISEQ-2000均可准确检测出HD793标准品(表2)和HD795标准品(表3)中的 *BRCA1/2* 突变：检测到的变异等位基因频率(Variant Allel Frequency, VAF)与理论预期值高度一致，相关系数(R^2)超过0.95(图2)。

测序仪型号	标准品名称	Clean Q30	Mapping rate	Target rate
DNBSEQ-E25	HD793	96.73%	99.70%	96.10%
	HD795	96.69%	99.63%	97.00%
DNBSEQ-G99	HD793	92.66%	99.86%	96.50%
	HD795	93.04%	99.92%	96.80%
MGISEQ-2000	HD793	96.86%	99.00%	98.90%
	HD795	97.04%	99.92%	96.80%

表1. DNBSEQ-E25/DNBSEQ-G99/MGISEQ-2000的基础测序指标展示。

基因	GRCh37 coordinates	Coding	Protein	Expected VAF	DNBSEQ-E25 VAF	DNBSEQ-G99 VAF	MGISEQ-2000 VAF
<i>BRCA1</i>	17:41246245	c.1303G>T	p.Asp435Tyr	50.00%	50.57%	50.41%	33.00%
<i>BRCA1</i>	17:41244000	c.3548A>G	p.Lys1183Arg	50.00%	46.35%	49.14%	53.00%
<i>BRCA1</i>	17:41245090	c.2458A>G	p.Lys820Glu	50.00%	48.49%	49.51%	48.00%
<i>BRCA1</i>	17:41244936	c.2612C>T	p.Pro871Leu	100.00%	99.84%	99.81%	100.00%
<i>BRCA1</i>	17:41234451	c.4327C>T	p.Arg1443Ter	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>BRCA1</i>	17:41223094	c.4837A>G	p.Ser1613Gly	50.00%	58.05%	53.85%	67.00%
<i>BRCA2</i>	13:32912750	c.4258G>T	p.Asp1420Tyr	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>BRCA2</i>	13:32937355	c.8021dup	p.Ile2675AspfsTer6	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>BRCA2</i>	13:32913559	c.5073del	p.Lys1691AsnfsTer15	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%
<i>BRCA2</i>	13:32913837	c.5351del	p.Asn1784ThrfsTer7	50.00%	52.78%	48.64%	50.00%
<i>BRCA2</i>	13:32906480	c.865A>C	p.Asn289His	50.00%	56.04%	51.14%	54.00%
<i>BRCA2</i>	13:32911463	c.2971A>G	p.Asn991Asp	50.00%	50.93%	51.93%	50.00%
<i>BRCA2</i>	13:32929387	c.7397T>C	p.Val2466Ala	100.00%	99.80%	99.86%	100.00%

表2. HD793样本的检测结果。

基因	GRCh37 coordinates	Coding	Protein	Expected VAF	DNBSEQ-E25 VAF	DNBSEQ-G99 VAF	MGISEQ-2000 VAF
BRCA1	17:41246245	c.1303G>T	p.Asp435Tyr	7.50%	8.95%	7.68%	6.50%
BRCA1	17:41244000	c.3548A>G	p.Lys1183Arg	7.50%	7.70%	8.09%	10.00%
BRCA1	17:41245090	c.2458A>G	p.Lys820Glu	7.50%	7.96%	8.25%	6.50%
BRCA1	17:41244936	c.2612C>T	p.Pro871Leu	15.00%	18.03%	18.66%	15.00%
BRCA1	17:41234451	c.4327C>T	p.Arg1443Ter	32.50%	25.28%	19.49%	14.00%
BRCA1	17:41223094	c.4837A>G	p.Ser1613Gly	7.50%	10.02%	9.43%	10.00%
BRCA2	13:32912750	c.4258G>T	p.Asp1420Tyr	32.50%	23.58%	30.09%	27.00%
BRCA2	13:32937355	c.8021dup	p.Ile2675AspfsTer6	10.00%	7.93%	10.10%	10.00%
BRCA2	13:32913559	c.5073del	p.Lys1691AsnfsTer15	32.50%	33.54%	32.76%	33.00%
BRCA2	13:32913837	c.5351del	p.Asn1784ThrfsTer7	40.00%	40.75%	37.85%	42.00%
BRCA2	13:32906480	c.865A>C	p.Asn289His	7.50%	8.43%	7.87%	7.00%
BRCA2	13:32911463	c.2971A>G	p.Asn991Asp	7.50%	8.21%	8.01%	8.00%
BRCA2	13:32929387	c.7397T>C	p.Val2466Ala	100.00%	99.80%	99.84%	100.00%

表3. HD795样本的检测结果。

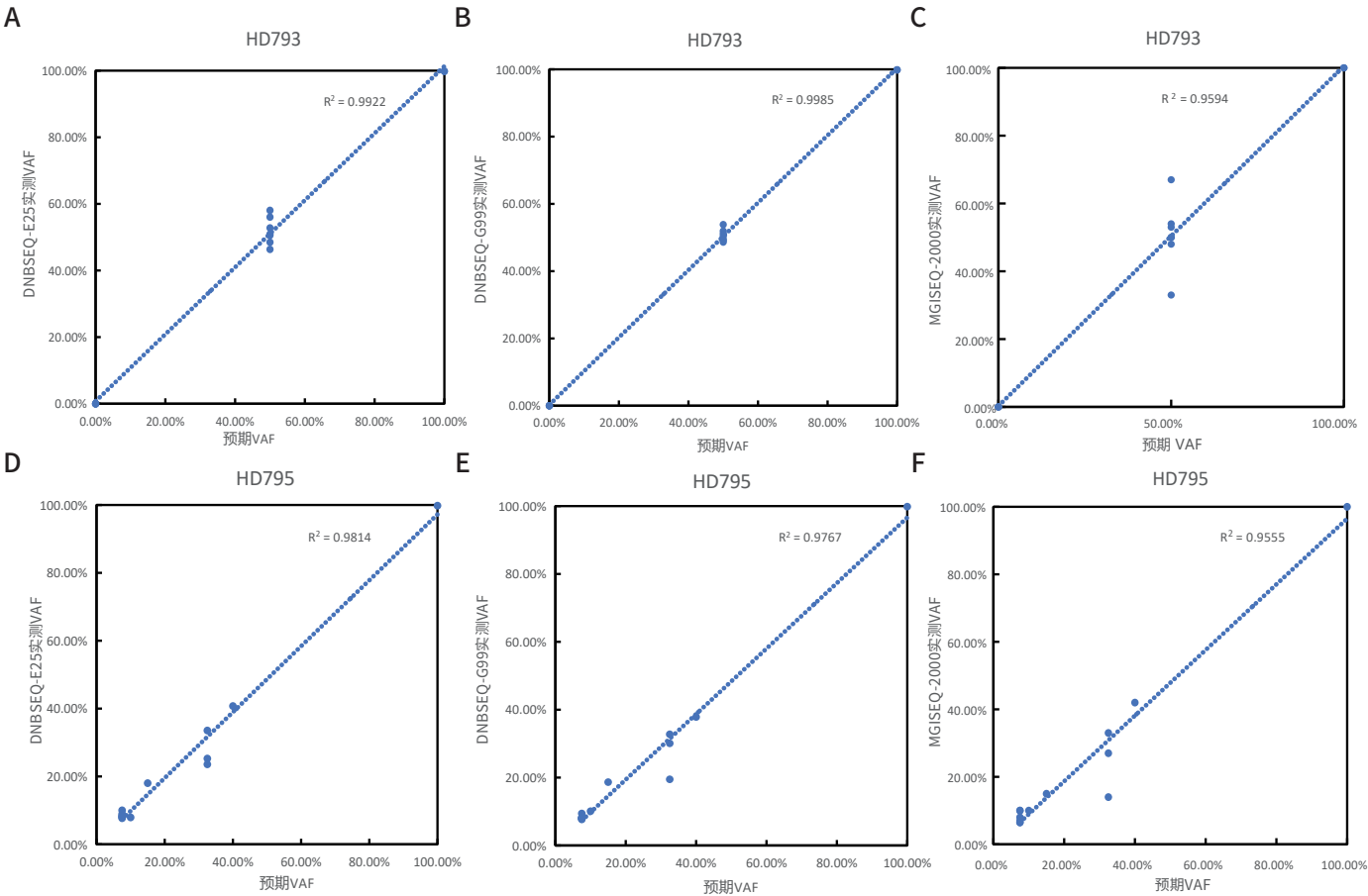


图2. DNBSEQ-E25/DNBSEQ-G99/MGISEQ-2000对HD793、HD795标准品变异检测的相关性分析。

仅供研究使用，不适用于临床诊断

HGT分析平台搭配DNBSEQ平台可准确鉴定BRCA1/2致病位点

HGT生信分析平台依据ACMG分类标准，将BRCA1/2基因突变分为致病性变异，可能致病的变异，良性变异以及可能良性的变异,意义不明的

变异以帮助研究人员进行快速诊断。本测试发现HD793与HD795标准品内均存在致病性变异(Pathogenic)，且三款测序仪(DNBSEQ-E25、DNBSEQ-G99及MGISEQ-2000)的检测结果较为一致(表4)。

样本	基因	GRCh37 coordinates	Protein	DNBSEQ-E25 VAF	DNBSEQ-G99 VAF	MGISEQ-2000 VAF	ACMG classification
HD793	BRCA2	13:32913837	p.Asn1784ThrfsTer7	52.78%	48.64%	50.00%	Pathogenic
HD795	BRCA1	17:41234451	p.Arg1443Ter	25.28%	19.49%	14.00%	Pathogenic
HD795	BRCA2	13:32937355	p.Ile2675AspfsTer6	7.93%	10.10%	10.00%	Pathogenic
HD795	BRCA2	13:32913559	p.Lys1691AsnfsTer15	33.54%	32.76%	33.00%	Pathogenic
HD795	BRCA2	13:32913837	p.Asn1784ThrfsTer7	40.75%	37.85%	42.00%	Pathogenic

表4. HD793以及HD795标准品中的致病性变异。

总结

康健基因HGT生信分析平台与DNBSEQ测序平台相结合，可为BRCA1/2基因突变的高效检测提供高准精度的解决方案，为BRCA1/2基因的深入研究提供强大的工具支撑，极大地促进了对乳腺癌和卵巢癌等相关基因变异的发现与理解，为临床诊断和个性化治疗提供坚实的科学基础。

DNBSEQ-E25是一款小巧、轻便、快捷的基因测序仪，仪器占桌面积仅0.1m²。DNBSEQ-E25采用独特的自发光生化体系，运行速度快，对实验室环境要求低，无需光路调校，开箱接线即可使用，大大降低了测序的门槛，适合开展病原微生物检测、小型基因组测序等应用。

DNBSEQ-G99是目前全球中小通量测序仪中速度最快的机型之一，内置计算模块，使得测序生信一体化，12小时可完成PE150测序，适用于小样本量的肿瘤靶向测序、小型全基因组测序、低深度WGS测序、个体识别、16s宏基因组测序等多种应用，数据产出高效且优质。

MGISEQ-2000通量灵活，每次运行支持1~2张载片同时上机，支持不同规格的载片(FCS小载片、FCL大载片)独立运行，支持多种测序读长，能够全面满足广泛的测序需求，是国内外测序实验室的首选机型之一。

致谢

此应用简报中的实验由华大智造日本东京客户体验中心（CEC）完成，十分感谢以上实验室为本文提供的支持和宝贵的意见。



DNBSEQ-E25
基因测序仪



DNBSEQ-G99
基因测序仪



MGISEQ-2000
基因测序仪

参考文献

1. Roy R, Chun J, Powell S N. BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection[J]. Nature Reviews Cancer, 2012, 12(1): 68-78.
2. Rebbeck T R, Mitra N, Wan F, et al. Association of type and location of BRCA1 and BRCA2 mutations with risk of breast and ovarian cancer[J]. Jama, 2015, 313(13): 1347-1361.
3. Barnes D R, Rookus M A, McGuffog L, et al. Polygenic risk scores and breast and epithelial ovarian cancer risks for carriers of BRCA1 and BRCA2 pathogenic variants[J]. Genetics in Medicine, 2020, 22(10): 1653-1666.
4. Cavanagh H, Rogers K M A. The role of BRCA1 and BRCA2 mutations in prostate, pancreatic and stomach cancers[J]. Hereditary cancer in clinical practice, 2015, 13: 1-7.
5. Roy R, Chun J, Powell S N. BRCA1 and BRCA2: different roles in a common pathway of genome protection[J]. Nature Reviews Cancer, 2012, 12(1): 68-78.
6. Farmer H, McCabe N, Lord C J, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy[J]. Nature, 2005, 434(7035): 917-921.
7. Robson M, Im S A, Senkus E, et al. Olaparib for metastatic breast cancer in patients with a germline BRCA mutation[J]. New England Journal of Medicine, 2017, 377(6): 523-533.
8. Jerez Y, Márquez-Rodas I, Aparicio I, et al. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibition in patients with breast cancer and BRCA 1 and 2 mutations[J]. Drugs, 2020, 80: 131-146.
9. Ledermann J, Harter P, Gourley C, et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial[J]. The lancet oncology, 2014, 15(8): 852-861.

推荐订购信息

产品类型	产品名称	产品货号
测序仪	基因测序仪DNBSEQ-E25RS	900-000490-00
	基因测序仪DNBSEQ-G99RS	900-000561-00
	基因测序仪MGISEQ-2000RS	900-000035-00
自动化仪器	MGISP-100RS基因测序文库制备仪	900-000070-00
	MGISP-960RS 自动化样本制备系统	900-000100-00
软件	康健基因(HGT)生信分析系统*	/
测序试剂	DNBSEQ-E25RS 高通量测序试剂套装(FCL PE150)	940-000567-00
	DNBSEQ-G99RS 高通量测序试剂套装(G99 FCL PE150)	940-001269-00
	DNBSEQ-G99清洗试剂盒	940-000624-00
	MGISEQ-2000RS 高通量测序试剂套装(PE150)	1000012555

*相关产品可登录康健基因官网(<https://www.genebook.com.tw/>)进行查阅订购

深圳华大智造科技股份有限公司

深圳市盐田区北山工业区综合楼11栋

☎ 4000-688-114

🌐 www.mgi-tech.com

✉ MGI-service@mgi-tech.com

股票简称：华大智造

股票代码：688114



仅供研究使用

版权声明：本手册版权属于深圳华大智造科技股份有限公司所有,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、编辑或翻译为其他语言。本手册中所有商标或标识均属于深圳华大智造科技股份有限公司及其提供者所有。

版本：2024年5月版

撰稿：张含菲

责任编辑：王其伟

审稿：江遥