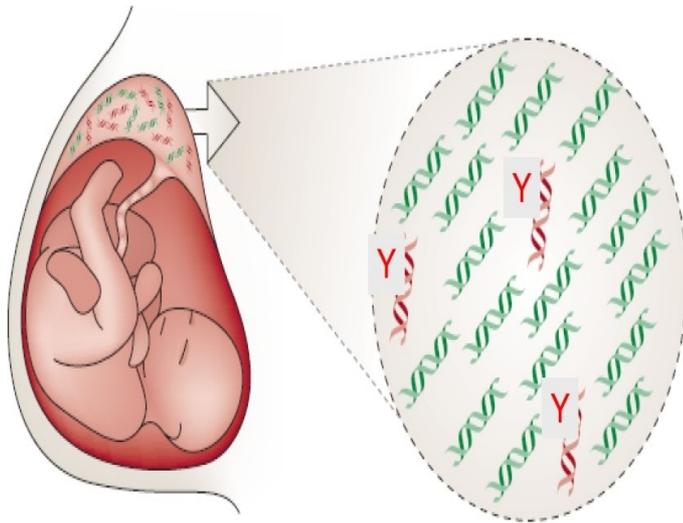


无创产前检测（NIPT）技术原理

主讲人：田洪润
北京贝瑞和康医疗器械有限公司



胎儿游离DNA (cffDNA)

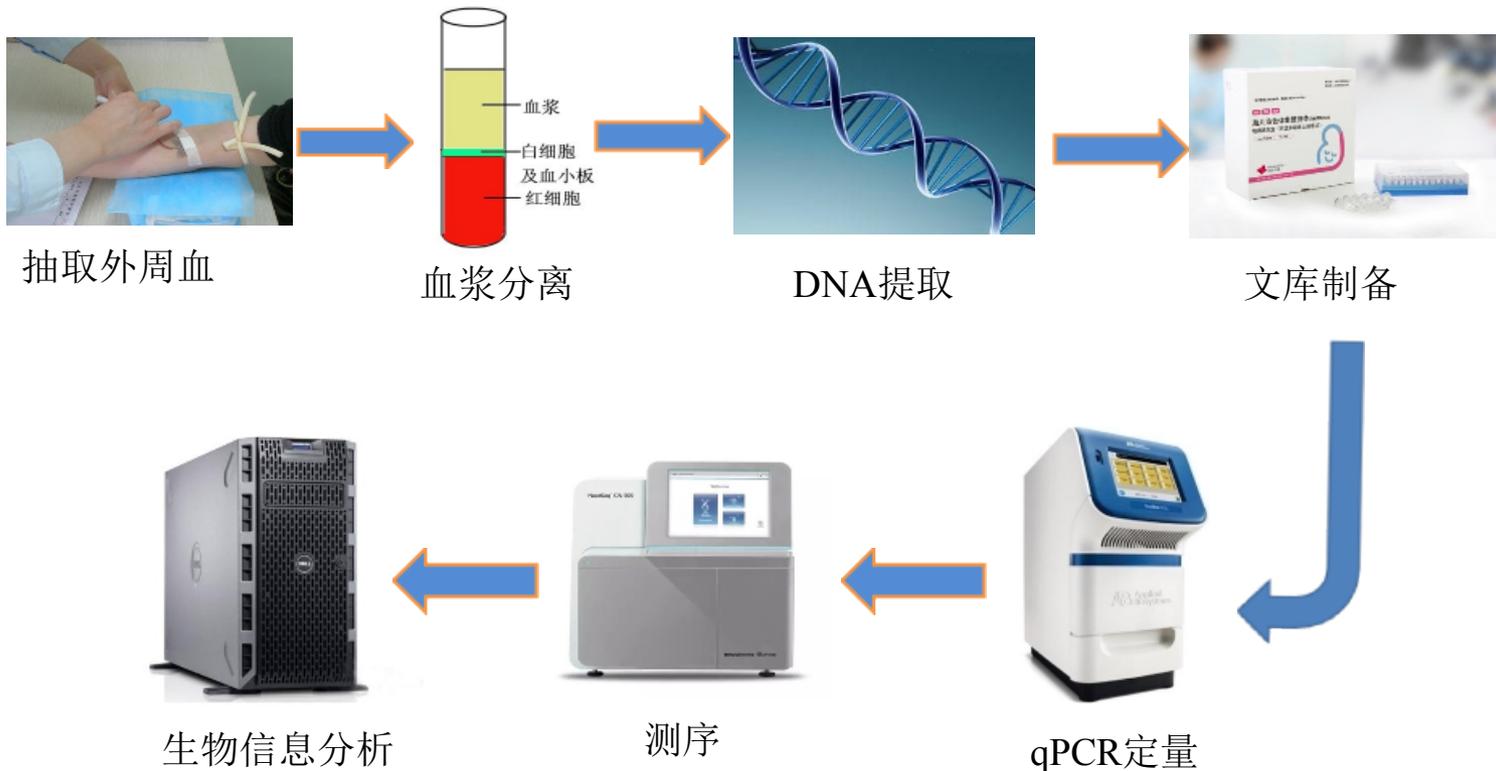


胎儿游离DNA: cell-free fetal DNA (cffDNA)

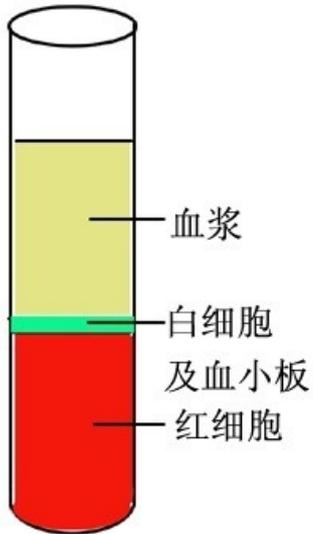
Fetal cf-DNA detected via Y chromosome
Lo YM et al., Lancet 1997

- 母体外周血含有的cffDNA，几乎全部来源于胎盘滋养细胞
- 怀孕4周可检出，8周后含量上升并稳定存在。（7周建立胎儿胎盘循环）
- cffDNA片段比较小，长度在75bp和250bp之间，平均仅为166bp
- 母体外周血中的cffDNA含量在5%-30%之间。孕周越大外周血中胚胎DNA的含量越高
- 游离的胎儿DNA可被从母体血浆中迅速清除,平均半衰期仅为16.3min(4~30min)。大多数孕妇在产后2h血浆游离胎儿DNA已测不到

无创产前检测技术 (Non-invasive prenatal testing)



1、血浆分离



10ml全血

两步离心，两次转管，获得血浆

1、4°C，1600g离心10min，转移血浆每支1.4ml

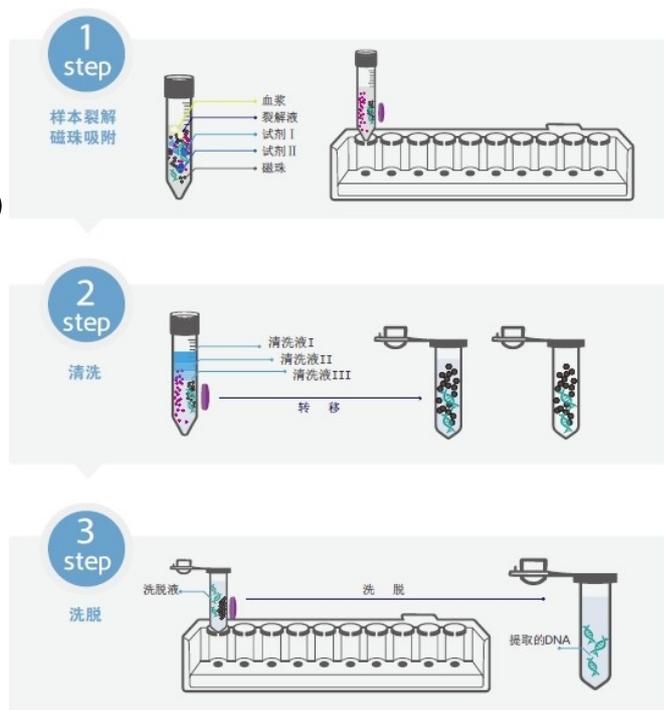
2、室温，16000g离心10min，转移上清每支1.3ml

每支**1.3ml**血
浆

2、DNA提取

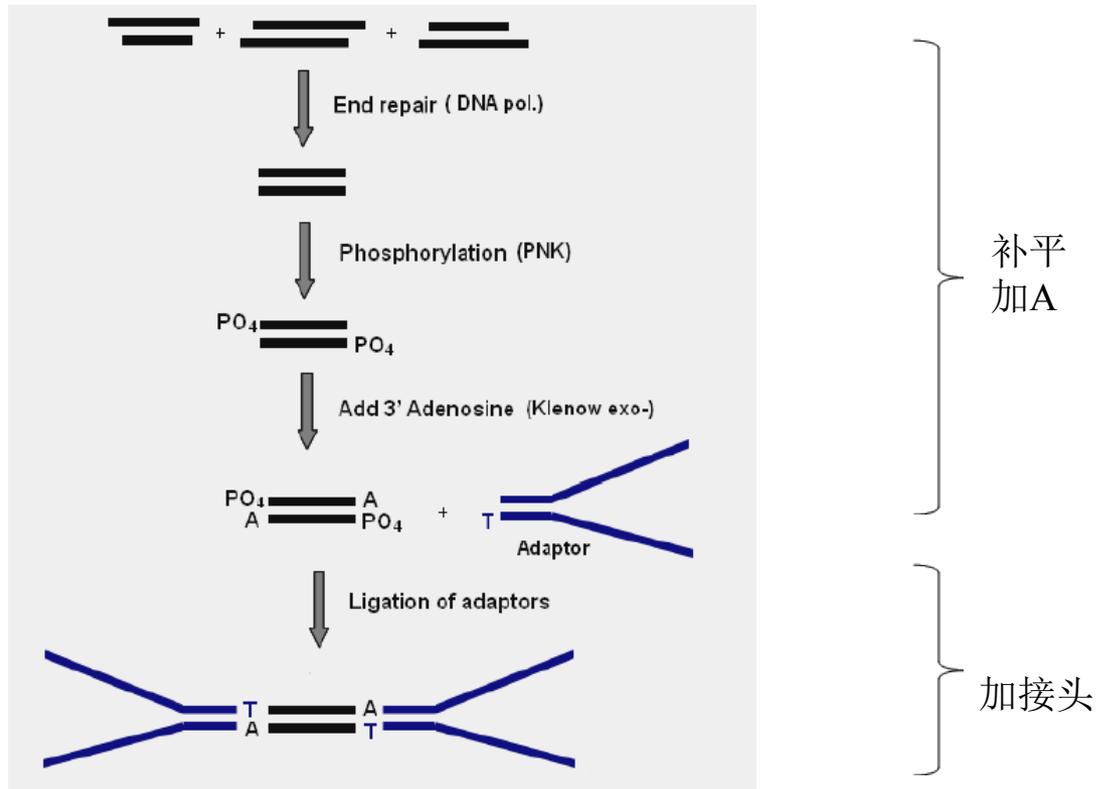
血浆游离DNA提取试剂盒

- Reagent II（核酸助沉剂）
- 磁珠（与DNA特异性结合）
- Reagent I（水解核酸蛋白）
- Lysis buffer（蛋白变性剂）



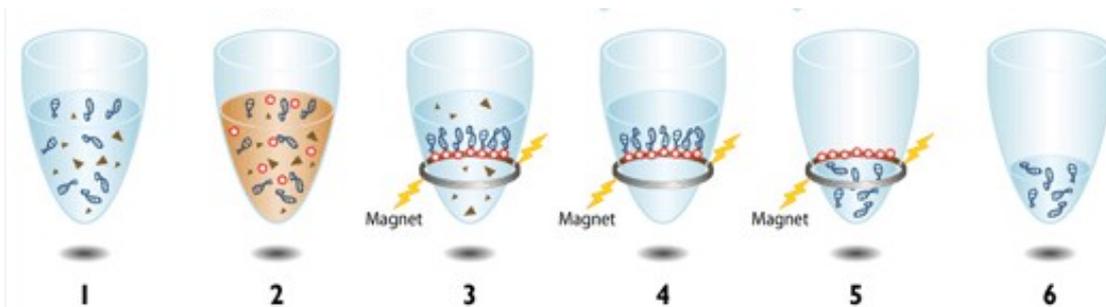
3、文库制备（EZ-PALO快速建库方法）

胎儿染色体非整倍体（T13/T18/T21)检测试剂盒



纯化过程

测序文库构建DNA纯化试剂盒



磁珠

结合DNA

吸附弃废液

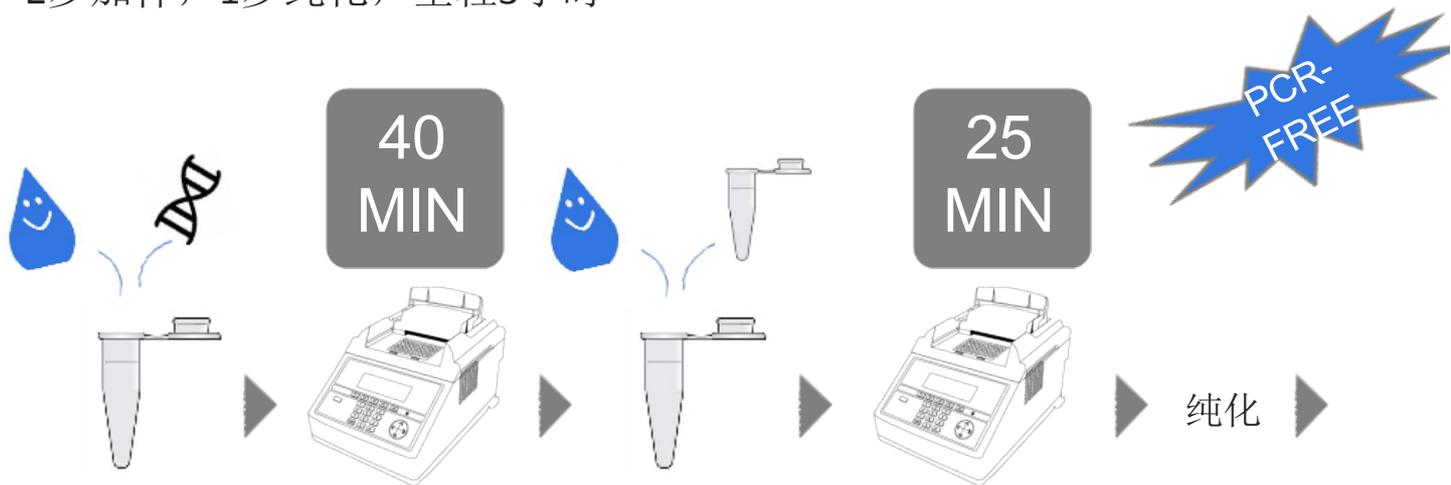
冲洗表面

洗脱

转移

最适合临床应用的超简建库法

2步加样，1步纯化，全程3小时



补平加A

加接头

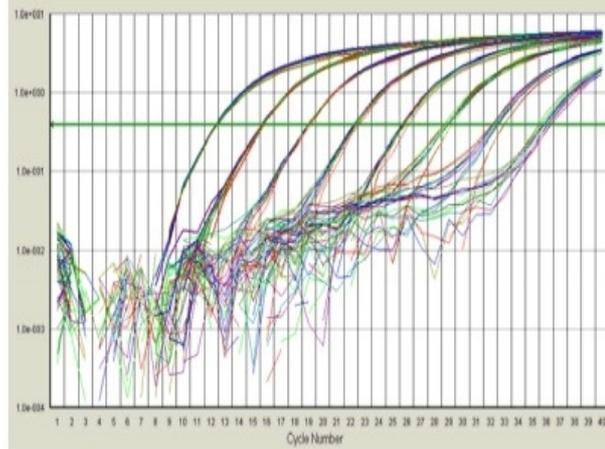
降低临床操作复杂度
降低出错的可能性

降低污染
质控更容易

4、qPCR定量

- 所谓定量PCR技术（简称qPCR），是指在PCR反应体系中加入荧光基团，利用荧光信号积累实时监测整个PCR进程。最后通过标准曲线对

对数图谱

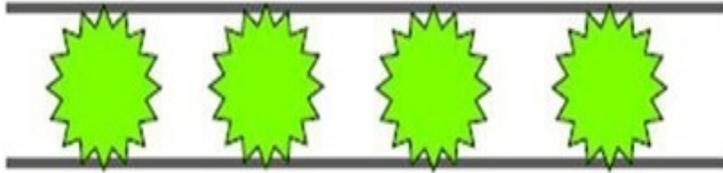


平台期
线性增长期
指数增长期
基线期

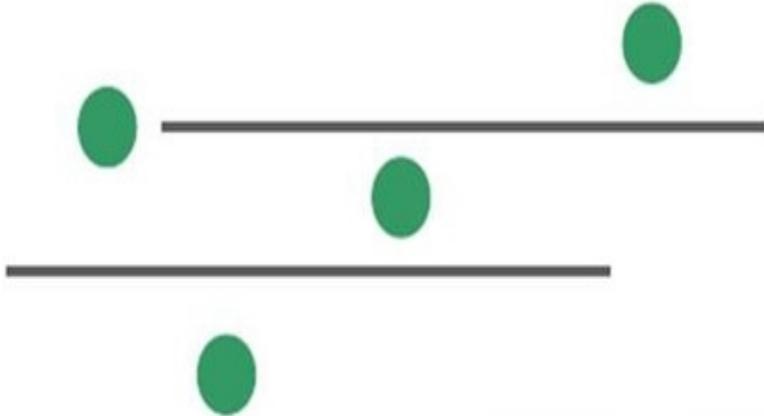
QC试剂

货号、品名（中英文）、 货物描述	货号	包装规格	厂家信息
KAPA SYBR® FAST Universal 2X qPCR Master Mix (5 mL)	KK4601	盒 (5ml/盒)	kapabiosystems
DNA Quantification Standards and Primer Premix Kit/ Illumina GA	KK4808	盒 (480ul/盒)	kapabiosystems

SYBR Green法



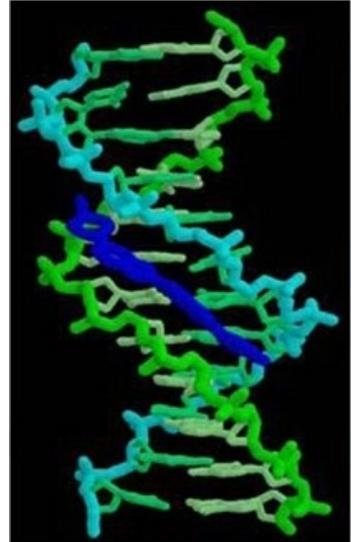
与DNA结合时发光



游离时不发光

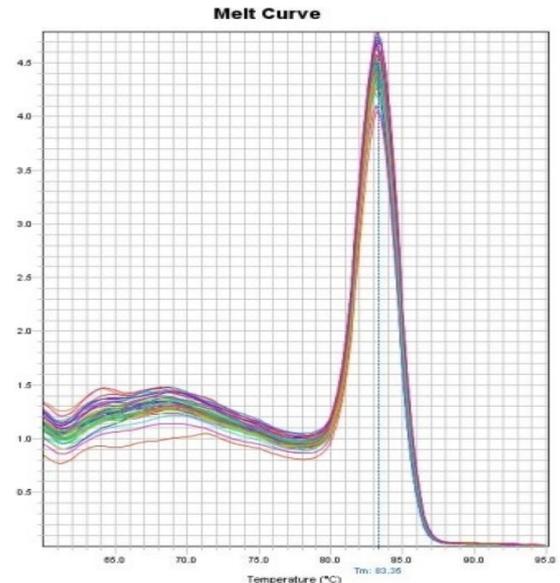
数量关系

- 每形成一条DNA双链，就有一定数量的染料结合上去
- 染料一结合，就产生荧光信号
- 信号强度与DNA分子总数目成正比



熔解曲线

- **T_m值**：50%双链DNA变成单链时的温度，此温度与DNA的长度、GC含量有关，可部分代表序列的特异性
- PCR过程中，控制温度缓慢升高，双链DNA解链成为单链DNA，SYBR Green被释放，



以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/118023026123006077>