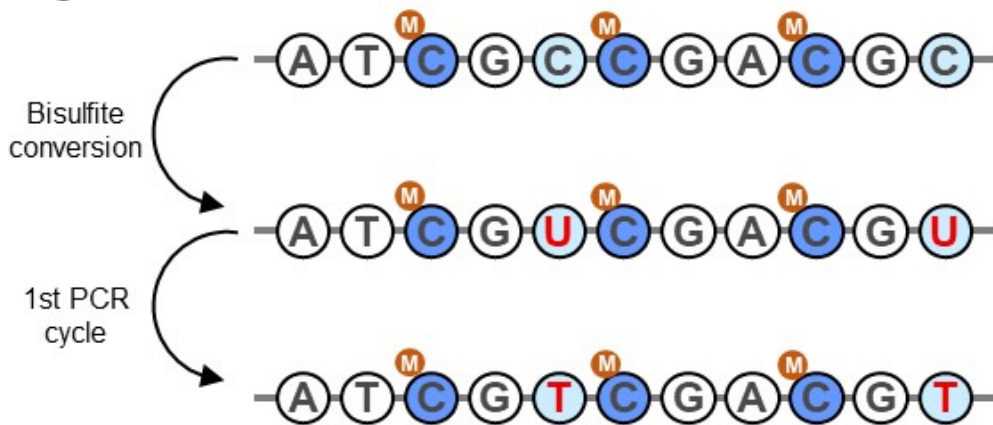


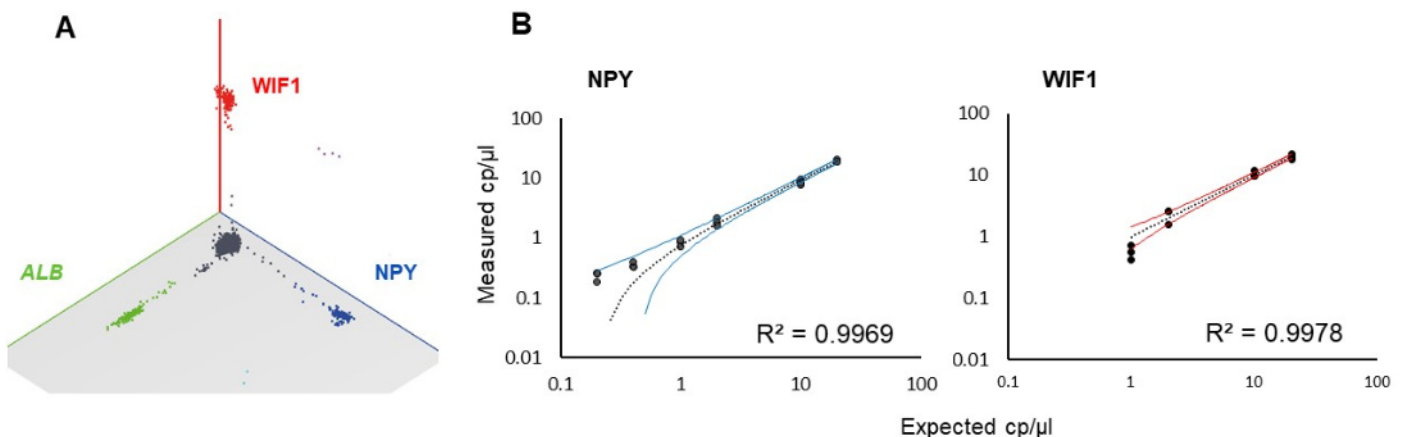
基因調控區的DNA甲基化狀態的改變可導致多種癌症的發生。這種表觀遺傳學改變在生物學上是穩定的，並存在於循環腫瘤DNA（ctDNA）中，使其適合於早期檢測和無創動態監測腫瘤負荷。數字PCR技術憑藉其較高的靈敏度、精準度以及對抑制劑的耐受度，在對低拷貝樣品檢測時表現出了極大的優勢。

在轉移性和II/III期結直腸癌（CRC）患者中，WNT抑制因子1（WIF1）和神經肽T（NPY）的甲基化程度較高，為了評估是否可以使用WIF1和NPY的甲基化程度作為一種結直腸癌標誌物，法國Stilla Technologies聯合法國國家科學研究中心（CNRS）、AP-HP等相關單位建立了一種將亞硫酸氫鹽法（bisulfite-將未甲基胞嘧啶轉化為尿嘧啶）與數字PCR相結合的方法。

**Figure 1. A**

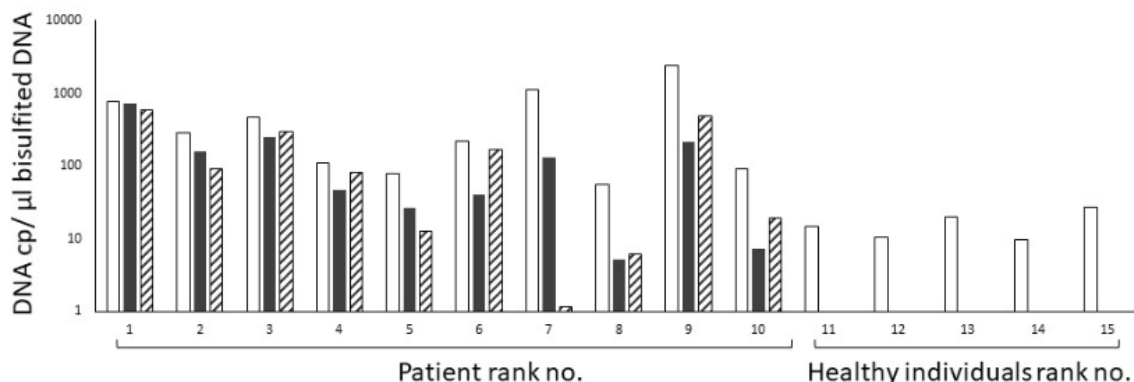


為了檢測WIF1和NPY，利用亞硫酸氫鹽-3色dPCR檢測方法，選擇白蛋白基因ALB作為參考基因，測試了從健康個體和CRC患者血漿中提取的ctDNA。並對WIF1和NPY的LOB和LOD進行評估。



## 3色Naica Crystal Digital PCR檢測WIF1和NPY

分別檢測了10個來自III期或IV期CRC患者和5個健康個體的血漿樣品。來自CRC患者的所有血漿DNA樣本的高甲基化WIF1和NPY得分均為陽性，而在健康個體中未檢測到高甲基化的WIF1和NPY。通過將WIF1和NPY濃度與ALB參考濃度對比評估，血漿DNA中的高甲基化WIF1比例範圍為8%至93%，而高甲基化NPY的比例範圍為0.1%至78%。血漿樣品中檢測到的最低甲基化WIF1和NPY量分別為5.1和1.2cp/μL。



通過上述方法，即經亞硫酸氫鹽轉化後再進行3色數字PCR方法，能夠在每25μL體系中可靠的檢測低至25和5個拷貝的高甲基化WIF1和NPY，並且該檢測結果可以用作通用的結直腸癌標誌物和腫瘤特異性突變的替代物。使用3色Naica Crystal Digital PCR檢測WIF1和NPY，結果和理論值一致，未出假陰性和假陽性結果。

## Naica數字PCR平台

法國Stilla Technologies公司的Naica數字PCR技術在進行核酸檢測時具有獨特的優勢。系統利用cutting-edge微流體創新型晶片—Sapphire晶片作為數字PCR過程的唯一耗材。樣品通過毛細通道網格以30,000個微滴的形式進入2D晶片中。3色螢光檢測儀器，整個流程只需要2.5小時，並可進行數據的質控和結果追溯分析，獲得的數據真實可靠。

