

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(10) 国际公布号
WO 2023/193357 A1

(43) 国际公布日
2023 年 10 月 12 日 (12.10.2023)

(51) 国际专利分类号:
C12Q 1/6869 (2018.01) *C40B 50/06* (2006.01)
C12Q 1/6806 (2018.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/103499

(22) 国际申请日: 2022 年 7 月 2 日 (02.07.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202210365172.3 2022 年 4 月 8 日 (08.04.2022) CN

(71) 申请人: 昌平国家实验室 (CHANGPING NATIONAL LABORATORY) [CN/CN]; 中国北京市昌平区中关村生命科学园路 7 号, Beijing 102206 (CN)。

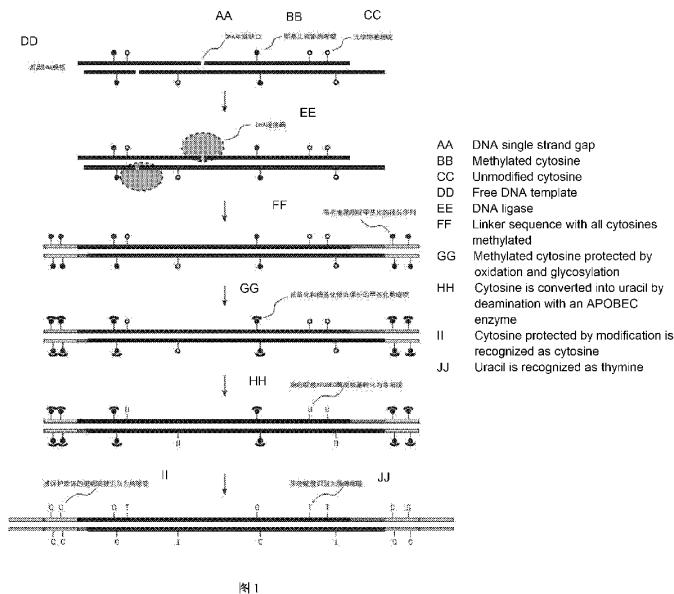
(72) 发明人: 曹云龙 (CAO, Yunlong); 中国北京市昌平区中关村生命科学园路 7 号, Beijing 102206 (CN)。 谢晓亮 (XIE, Xiaoliang); 中国北京市昌平区中关村生命科学园路 7 号, Beijing 102206 (CN)。

(74) 代理人: 北京惠森至诚知识产权代理有限公司 (特殊普通合伙) (BEIJING HUI SEN ZHICHENG INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE (LLP)); 中国北京市昌平区发展路 8 号院 4 号楼 3 层 314, Beijing 102206 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS,

(54) Title: METHOD FOR CONSTRUCTING FREE DNA METHYLATION SEQUENCING LIBRARY AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 游离DNA甲基化测序文库构建方法及应用



(57) Abstract: The present invention relates to a method for constructing a free DNA methylation sequencing library and use thereof. According to the method, DNA methylation and fragmentomics can be detected at the same time. The method of the present invention comprises: when establishing a sequencing library, repairing a phosphodiester bond gap on a double-stranded DNA, connecting the double-stranded DNA to a linker sequence, and establishing a DNA methylation sequencing library by using an enzymatic transformation method. The method of the present invention can preserve the integrity of the double-stranded DNA, and prevent the breakage of

[见续页]

WO 2023/193357 A1

IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

the DNA strands, the loss of fragmentomic information in the sequencing library, and the erasion of DNA methylation modification downstream to the gap in the terminal repair process that leads to inaccurate DNA methylation information acquisition.

(57) 摘要: 本发明涉及一种游离DNA甲基化测序文库构建方法及应用, 该方法可以同时实现对DNA甲基化和片段组学进行检测。本发明的方法在建立测序文库时, 首先对DNA双链上的磷酸二酯键缺口进行修复, 再对双链DNA进行接头序列连接, 然后利用酶学转化法来建立DNA甲基化测序文库。本发明的方法能够保留DNA双链完整性、防止DNA链断裂, 保证测序文库中的片段组学信息不被破坏, 同时防止末端修复步骤在缺口下游产生DNA甲基化修饰抹除、进而导致不能获得准确的DNA甲基化信息。