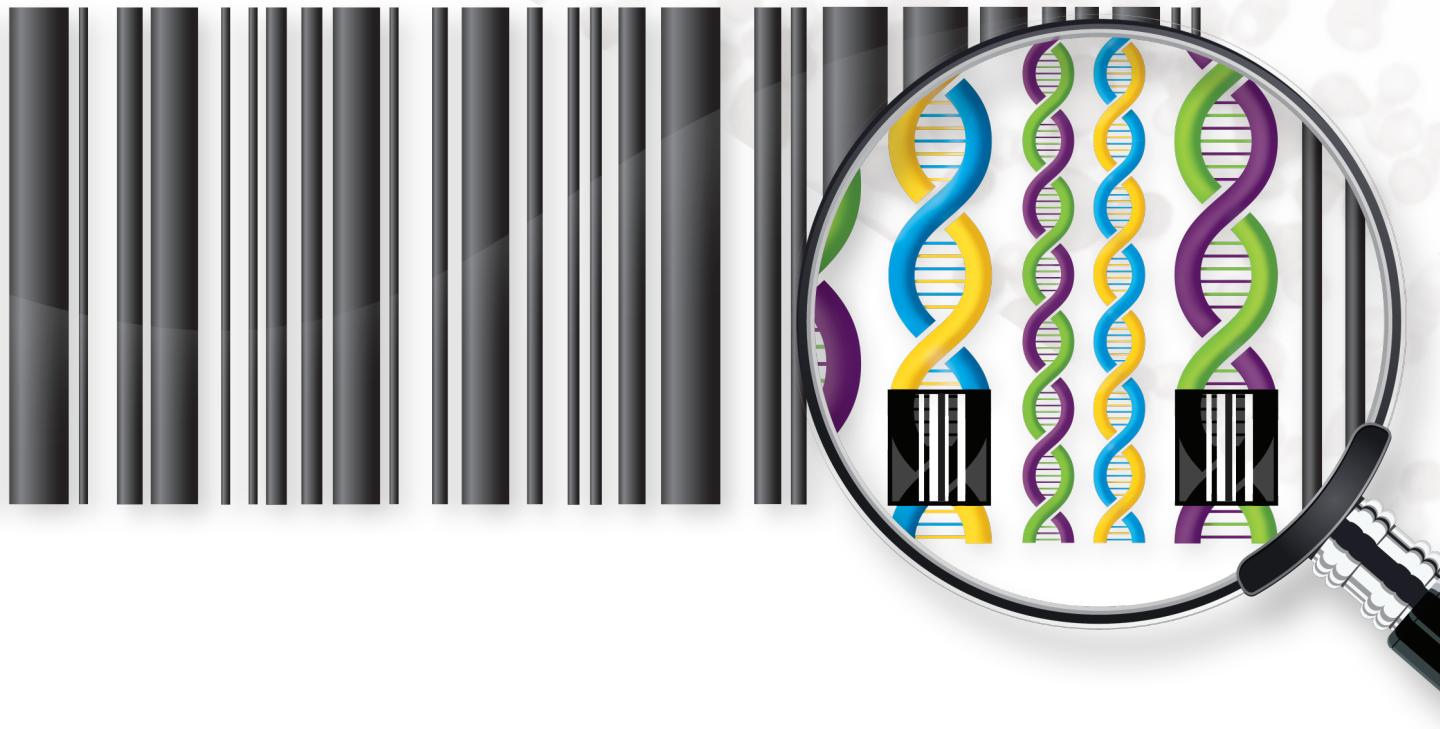


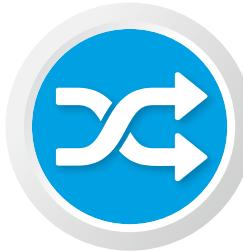
# SURESELECT<sup>XT HS</sup> 靶向序列捕获



针对 FFPE 优化

高灵敏度

简化的工作流程



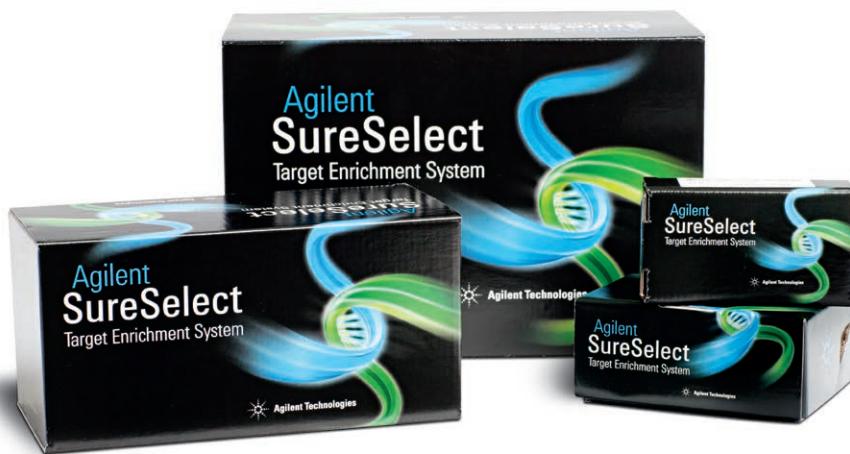
Agilent Technologies

## 什么是 SureSelect<sup>XT HS</sup>？

SureSelect<sup>XT HS</sup> 试剂盒作为安捷伦灵敏度最高的杂交捕获型文库制备和用于 NGS 的靶向序列捕获解决方案，成为了 SureSelect 文库制备试剂家族中的成员。

### 主要特性

- DNA 起始量 **10 ng**
- 针对高质量完整 DNA 以及低质量和高质量 **FFPE DNA** 进行了优化
- **分子条形码 (MBC)** 标记文库可提高阳性预测值 (PPV)
- **复杂度更高**的文库，在靶标区域中的读出序列百分比更高
- **90 分钟**杂交和**反应预混**试剂，实现更快速更高效的工作流程



# 针对 FFPE 优化

## FFPE 优化文库制备的重要性

尽管 FFPE 样品为多种遗传信息提供了有价值的来源，但从 FFPE 组织中分离 DNA 的难题在于纯化足够分子量的 DNA 以及达到一定的扩增和检测质量。通常而言，当 FFPE DNA 制备出来用于文库生成时，其降解程度已过高而无法用于高灵敏度的 NGS。因此，有必要通过优化文库制备与尽量减少步骤数降低样品损失，并从挑战性样品类型中获得高质量文库。

## 针对 FFPE 优化的安捷论文库制备

对于新鲜样品与 FFPE 样品中的多种组织类型，SureSelect<sup>XT HS</sup> 仅用 10-200 ng 起始原料即可生成靶标区域读出序列百分比较高的更复杂文库。为改善不同质量 FFPE 样品单核苷酸变异 (SNV) 的识别和一致性，安捷伦已开发出一款完整的工作流程解决方案，该方案具有 DNA 质量预评估（FFPE QC 试剂盒，部件号 G9700A 和 G9700B 以及 4200 TapeStation 系统）和单管文库制备功能。

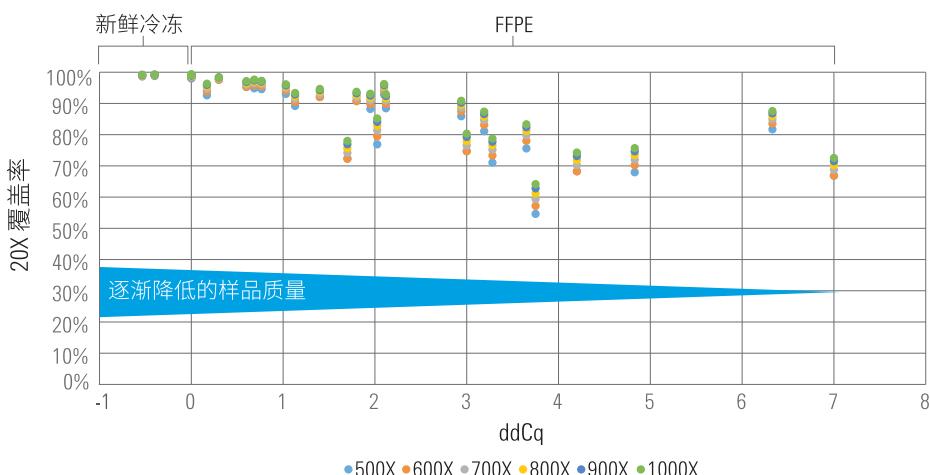


图 1. SureSelect<sup>XT HS</sup> 已针对 FFPE 进行了性能优化，在质量逐渐降低的样品中多数碱基覆盖率达到了 20X。

将测序深度越来越高的 20X 以上读取深度覆盖（4 百万到 8 百万 - 2×100 bp 读出序列）的碱基百分比相对于 gDNA 质量（基于 qPCR 的 gDNA 质量 (ddCq)，并用安捷伦 FFPE QC 检测试剂盒进行计算）作图

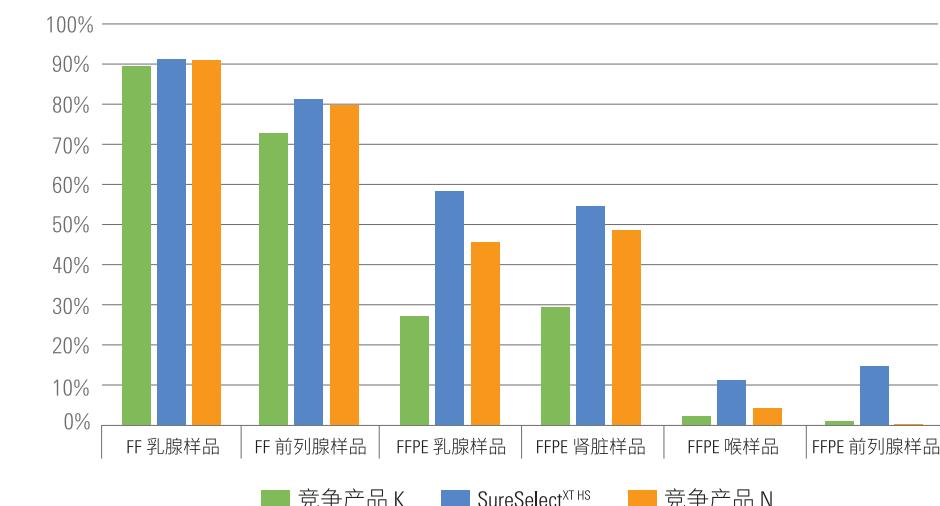


图 2. SureSelect<sup>XT HS</sup> 在 100X 覆盖率下优于其他文库制备解决方案，尤其是在样品质量下降时：根据 8 百万 - 2×100 bp 读出序列的 1000X 测序深度，将 100X 以上读取深度覆盖的碱基百分比相对于质量越来越低的 gDNA（基于 qPCR 的 gDNA 质量 (ddCq)，并用安捷伦 FFPE QC 检测试剂盒进行计算）作图



## 优点

- 改善 FFPE DNA 的 SNV 识别
- 减少文库制备步骤数，避免 DNA 损失
- 可由低质量和高质量 DNA 制备更复杂的文库

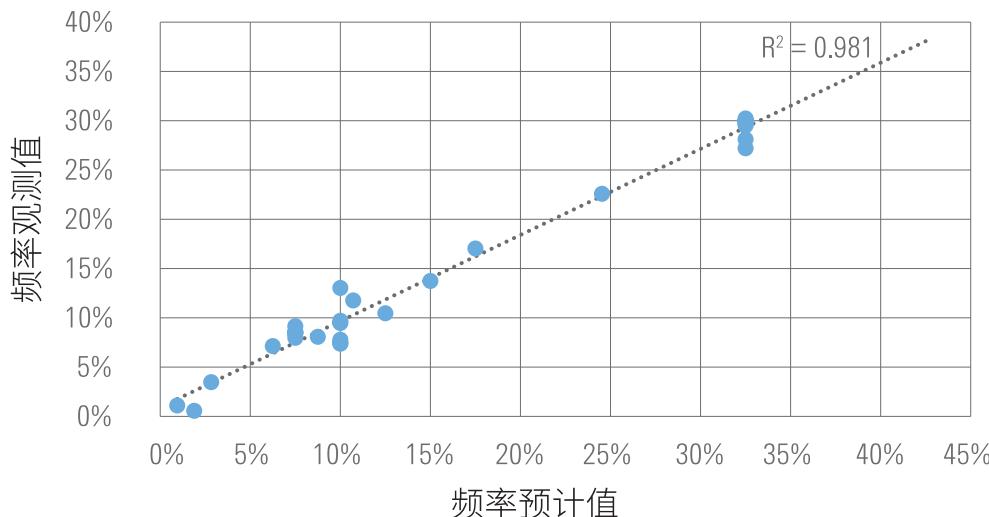
## 高灵敏度

### 高灵敏度的重要性

灵敏度指的是得到正确鉴定的真实变异的百分比。在大多数情况下，灵敏度受到起始量、检测性能以及 PCR 与测序错误率的限制。因此，传统 NGS 检测的错误水平通常会由于肿瘤异质性而影响低频变异的检测可信度。

### SureSelect<sup>XT HS</sup> 的出色灵敏度

SureSelect<sup>XT HS</sup> 中包括的分子条形码可帮助用户在文库制备、靶向序列捕获和测序等可能产生假阳性变异的过程中过滤出假阳性结果。SureSelect<sup>XT HS</sup> 中的分子条形码达到了行业前沿水平的指标，对罕见变异的检测频率低至  $\leq 1\%$ 。多数用户采用置信阈值且仅对等位基因频率高于 3%-5% 的变异进行识别，因此这一性能十分重要。



**图 3. 等位基因频率低至 1% 时的检测结果。** SureSelect<sup>XT HS</sup> 生成的文库在测序深度 3000X 时，即使在 VAF 频率低至 1% 时观测值和频率预计值之间也具有高度关联性 (HD200 定量多重参考标样和 ClearSeq 综合癌症基因组合)



### 优点

- 检测频率  $\leq 1\%$  的变异
- 避免出现限制 NGS 灵敏度的由扩增和测序导致的假阳性结果
- 在起始 DNA 低至 10 ng 时提高数据质量与测序结果可信度

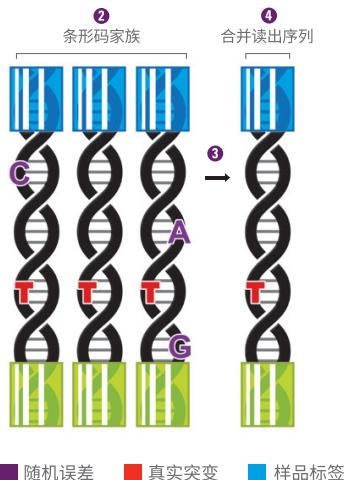
# 分子条形码

## 什么是分子条形码？

分子条形码是独特的 DNA 序列，它附着在给定样品中的每个原始 DNA 片段上。这些独特的 DNA 序列包含随机的核苷酸、部分简并核苷酸或指定核苷酸。分子条形码附着在 DNA 片段上，为每个起始分子分配独特的识别码。

### 基本分子条形码 (MBC) 分析

- 步骤 ① 读出序列比对
- 步骤 ② 根据读出序列的“开始-停止”位置将读出序列对分组至设计探针
- 步骤 ③ 利用每个探针的相同分子条形码序列对读出序列进行分组
- 步骤 ④ 将读出序列信息合并为每个分子一个读出序列（去除 PCR 重复）



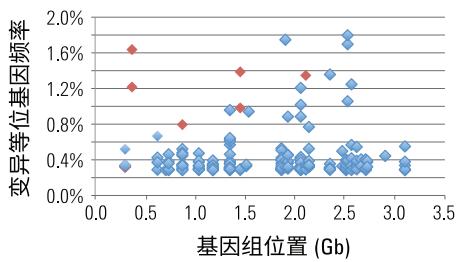
### 优点

- 通过去除假阳性结果改善低频率等位基因的检测
- 提高准确识别变异等位基因频率 (VAF) 小于 1% 的生物相关性变异的能力

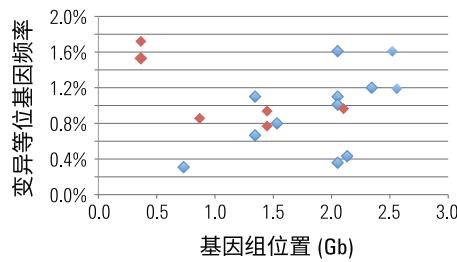
## 分子条形码为何如此重要？

PCR 扩增和测序过程中引入的错误提高了原始 DNA 模板的整体错误率。这些错误或假阳性结果降低了样品中低水平真实突变的灵敏度。这个问题尤其容易发生在某些肿瘤亚群等异质性更高的细胞群中。分子条形码通过消除假阳性结果并提供误差校正以实现更准确的变异识别，帮助用户检测模板 DNA 分子中的低频突变。

### 标准去冗余



### MBC 去除冗余



◆ 经 Horizon 验证的 SNV ◆ 检测出的其他非参照碱基，但未出现在 Horizon 提供的列表中

**图 4. 利用分子条形码 (MBC) 分析提高数据质量。**对 Horizon cfDNA 参照和定制 164 kb SureSelect 基因组合构建的 SureSelect<sup>XT HS</sup> 文库进行靶向测序，在去冗余后达到了 808 (标准) / 906 (MBC) 的中等覆盖率。经过标准去冗余后，在小于 2% 的变异等位基因频率下检测出 216 个非参照等位基因，而采用 MBC 得到的这一数字仅为 18。这表明错误识别减少了 92%。数据结果由英国伦敦癌症研究所演化和癌症中心的 L.J. Barber 博士和 M. Gerlinger 博士提供

## 简化的工作流程

### 简化的工作流程有助于加快分析速度

SureSelect<sup>XT HS</sup> 可减少单独酶法步骤、清除步骤和样品转移，使用户简化工作流程并维持文库复杂度，在较低起始量（低至 10 ng）下更是如此。安捷伦公司推出了超快速的杂交方法。我们的 90 分钟杂交与更高效的反应预混试剂结合使用，可使用户在一天内完成从样品处理到生成待测序文库的过程。此外，工作流程支持在一次混合中对最多 32 个样品进行深度多重测序。



#### 创建靶向捕获基因组合

##### 目标基因组定位

在 SureDesign 中  
设计靶标序列

**捕获文库**  
(SureSelect 或 ClearSeq)

#### 文库制备

**基因组 DNA 样品**  
(每个样品 10 ng-200 ng DNA)

打断 DNA

**150-200 bp 的 DNA 片段**

采用 SureSelect<sup>XT HS</sup>  
文库制备试剂盒  
制备样品

**分子条形码和加标 DNA 文库**

PCR 扩增

**制备的 DNA 文库**

利用 SureSelect<sup>XT HS</sup>  
和方案进行杂交

**捕获文库/制备好的 DNA 文库杂交子**

在磁珠上捕获杂交

**捕获的文库**

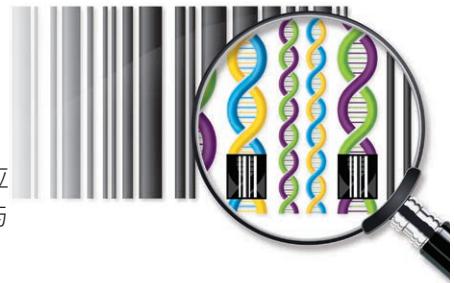
PCR 扩增

混合捕获的样品  
(可选)

**SureSelect 技术富集的加标 NGS 样品**

# SureSelect 文库制备与靶向序列捕获解决方案

安捷伦公司具有多种文库制备和靶向序列捕获解决方案，适用于癌症和遗传性疾病应用。无论 DNA 起始量低至 10 ng 或高达 3 µg，文库制备和靶向序列捕获解决方案均可与 ClearSeq 基因组合、SureSelect 外显子组或定制基因组合完美匹配。



## 用于癌症和遗传性疾病应用的 SureSelect 文库制备解决方案

产品名称	SureSelect <sup>XT HS</sup>	SureSelect <sup>XT</sup> 低起始量试剂盒	SureSelect <sup>XT</sup>	SureSelect <sup>XT2</sup>	SureSelect <sup>QXT</sup>
DNA 起始量	10 ng - 200 ng	10 ng - 200 ng	200 ng - 3 µg	100 ng - 1 µg	50 ng
周转时间	8 小时	8 小时	1.5 天	1.5 天	7 小时
是否需要 Covaris	是	是	是	是	否
文库复杂度	很高	很高	高	中等	中等
特点	针对 FFPE 优化 分子条形码 反应预混试剂 在捕获前对样品进行标记，避免产生样品交叉污染	针对 FFPE 优化 分子条形码（可选） 反应预混试剂 在捕获前对样品进行标记，避免产生样品交叉污染	与 FFPE 样品兼容 可靠的变异识别	捕获前混合 反应预混试剂	基于转座酶 反应预混试剂 全基因组测序和靶向序列捕获兼容 仅适用于完整 DNA
主要优势	对 ≤ 1% VAF 具有高灵敏度	192 个样品标签	用于罕见等位基因检测的高复杂度文库	高性价比	无需 Covaris 的工作流程

## 订购信息

部件号	产品说明
<b>SureSelect<sup>XT HS</sup> 试剂盒，16 次反应，标签 1-16</b>	
G9704A	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒，标签 1-16 + <b>1-4.99 kb 靶向序列捕获探针，16 次反应</b>
G9704B	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒，标签 1-16 + <b>0.5-2.9 Mb 靶向序列捕获探针，16 次反应</b>
G9704C	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒，标签 1-16 + <b>3-5.9 Mb 靶向序列捕获探针，16 次反应</b>
G9704D	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒，标签 1-16 + <b>6-11.9 Mb 靶向序列捕获探针，16 次反应</b>
G9704E	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒，标签 1-16 + <b>12-24 Mb 靶向序列捕获探针，16 次反应</b>
G9704G	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒，标签 1-16 + <b>ClearSeq 综合癌症靶向序列捕获探针，16 次反应</b>
G9704H	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒，标签 1-16 + <b>临床研究外显子组 v2 靶向序列捕获探针，16 次反应</b>
G9704J	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒，标签 1-16 + <b>临床研究外显子组 v2 Plus 靶向序列捕获探针，16 次反应</b>
G9704K	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒，标签 1-16 + <b>人全外显子组 v6 靶向序列捕获探针，16 次反应</b>
G9704L	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒，标签 1-16 + <b>人全外显子组 v6 Plus 靶向序列捕获探针，16 次反应</b>

## 订购信息

部件号	产品说明
<b>SureSelect<sup>XT HS</sup> 试剂盒, 16 次反应, 标签 17-32</b>	
G9705A	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 17-32 + <b>1-499 kb</b> 靶向序列捕获探针, 16 次反应
G9705B	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 17-32 + <b>0.5-2.9 Mb</b> 靶向序列捕获探针, 16 次反应
G9705C	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 17-32 + <b>3-5.9 Mb</b> 靶向序列捕获探针, 16 次反应
G9705D	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 17-32 + <b>6-11.9 Mb</b> 靶向序列捕获探针, 16 次反应
G9705E	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 17-32 + <b>12-24 Mb</b> 靶向序列捕获探针, 16 次反应
G9705G	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 17-32 + <b>ClearSeq</b> 综合癌症靶向序列捕获探针, 16 次反应
G9705H	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 17-32 + <b>临床研究外显子组 v2</b> 靶向序列捕获探针, 16 次反应
G9705J	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 17-32 + <b>临床研究外显子组 v2 Plus</b> 靶向序列捕获探针, 16 次反应
G9705K	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 17-32 + <b>人全外显子组 v6</b> 靶向序列捕获探针, 16 次反应
G9705L	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 17-32 + <b>人全外显子组 v6 Plus</b> 靶向序列捕获探针, 16 次反应
<b>SureSelect<sup>XT HS</sup> 试剂盒, 96 次反应, 标签 1-32</b>	
G9706A	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 1-32 + <b>1-499 kb</b> 靶向序列捕获探针, 96 次反应
G9706B	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 1-32 + <b>0.5-2.9 Mb</b> 靶向序列捕获探针, 96 次反应
G9706C	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 1-32 + <b>3-5.9 Mb</b> 靶向序列捕获探针, 96 次反应
G9706D	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 1-32 + <b>6-11.9 Mb</b> 靶向序列捕获探针, 96 次反应
G9706E	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 1-32 + <b>12-24 Mb</b> 靶向序列捕获探针, 96 次反应
G9706G	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 1-32 + <b>ClearSeq</b> 综合癌症靶向序列捕获探针, 96 次反应
G9706H	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 1-32 + <b>临床研究外显子组 v2</b> 靶向序列捕获探针, 96 次反应
G9706J	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 1-32 + <b>临床研究外显子组 v2 Plus</b> 靶向序列捕获探针, 96 次反应
G9706K	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 1-32 + <b>人全外显子组 v6</b> 靶向序列捕获探针, 96 次反应
G9706L	SureSelect <sup>XT HS</sup> 试剂盒, 标签 1-32 + <b>人全外显子组 v6 Plus</b> 靶向序列捕获探针, 96 次反应

了解更多信息：  
[www.agilent.com/genomics/xths](http://www.agilent.com/genomics/xths)

可靠结果, 完整方案。

仅限研究使用。不可用于诊断目的。

PR7000-0685  
© 安捷伦科技（中国）有限公司, 2017  
2017 年 5 月 2 日, 中国出版  
5991-8165CHCN

查找当地的安捷伦客户中心：  
[www.agilent.com/genomics/contactus](http://www.agilent.com/genomics/contactus)

免费专线：  
**800-820-3278**  
**400-820-3278** (手机用户)

联系我们：  
**LSCA-China\_800@agilent.com**

在线询价：  
[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)



**Agilent Technologies**