

SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit

Weil Flexibilität und Leistung wichtig sind

Hauptmerkmale

- Erstellen von hochwertigen Bibliotheken mit lediglich 10 ng DNA aus intakten oder stark abgebauten FFPE-Proben.
- Je nach Bedarf kann entweder enzymatisches oder mechanisches Scheren von DNA gewählt werden.
- Minimales Index Hopping und maximaler Durchsatz dank Verwendung von bis zu 384 UDI.
- Duplex-MBCs zur stärkeren Unterdrückung von falsch-positiven Ergebnissen und genauen Erkennung von niedrigen VAF.
- Optionale Verwendung von MBC-freien Adaptern für Keimbahn-Anwendungen und maximale Sequenziereffizienz.
- Hohe Flexibilität durch zwei Workflow-Optionen zur Hybridisierung.
- Bestellen Sie bei einem Hersteller alles, was Sie für die NGS-Bibliothekserstellung und genomische Zielerreichung, einschließlich Beads, benötigen.

Übersicht

Das Agilent SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit ist eine hoch entwickelte Lösung zur NGS-Bibliothekserstellung und genomischen Zielerreichung. Es verbindet einen optimierten und flexiblen Arbeitsablauf mit einer hervorragenden Leistung und umfangreichen Leistungsmerkmalen, die für verschiedenen NGS-Anwendungen geeignet sind (Abb. 1). Das Kit bietet eine komplette Lösung für alle Anforderungen zur Erstellung von NGS-Bibliotheken. Der Arbeitsablauf gewährleistet eine zuverlässige und effiziente Verarbeitung von FFPE-Proben, was für die Krebsforschung unerlässlich ist.

Bis zu 384 eindeutige doppelte Probenindexpaare (UDIs) erlauben Laboratorien mit hohem Probendurchsatz die gleichzeitige Verarbeitung und Sequenzierung von Hunderten von Proben. Durch molekulare Barcodes auf beiden DNA-Strängen (Duplex-MBCs) können Konsensussequenzen erzeugt werden, die eine sehr niedrige Variantenallelfrequenzen-(VAF-)Erkennung erlauben. Dies ist insbesondere bei Flüssigbiopsie-Anwendungen entscheidend. Darüber hinaus bietet die Verwendung von MBC-freien Adaptern zusätzliche Sequenzierleistung für Keimbahn-Anwendungen. Schnelle Arbeitsablauf-Optionen zur Hybridisierung über Nacht erhöhen die Flexibilität Ihrer Arbeitsschicht. Agilent bietet als Hersteller alles aus einer Hand, einschließlich Aufreinigungs-Beads, Qualitätskontrollen und Automatisierungslösungen.

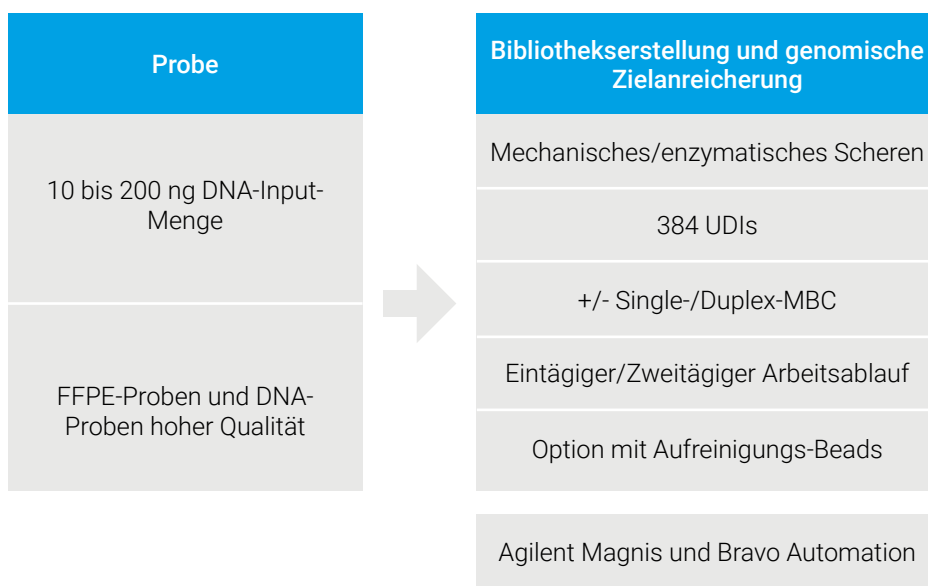


Abbildung 1. Das SureSelect XT HS2 DNA Reagenzien-Kit bietet einen optimierten, äußerst flexiblen Arbeitsablauf mit umfangreichen Leistungsmerkmalen, die Ihre Anforderungen an die NGS-Bibliothekserstellung erfüllen.

Eine einzige Lösung für alle Anforderungen an die NGS-Bibliothekserstellung

Der sehr flexible Arbeitsablauf des SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kits mit seinen umfangreichen Leistungsmerkmalen erlaubt Ihnen eine bestmögliche Anpassung an ihre Anforderungen. Das Kit ist optimiert für große Bandbreiten von DNA-Mengen (10–200 ng), unterschiedlichsten Probenarten (intakt oder FFPE), DNA-Schermethoden (mechanisch oder enzymatisch) und Sequenzierprotokollen (2 x 100 bp oder 2 x 150 bp). Nutzen Sie die Vorteile der 90-minütigen Schnellhybridisierung, um angereicherte Bibliotheken an einem einzigen Tag zu generieren. Sie können jedoch auch die Flexibilität eines auf zwei Arbeitstage verteilten Arbeitsablaufs mit Pausierung über Nacht nutzen. Die 16-stündige Hybridisierung über Nacht ist eine weitere Möglichkeit, Bibliotheken in zwei Tagen anzureichern, ohne dass die Sonden neu entwickelt werden müssen. Dank der Indizierung mit 384 eindeutigen doppelten Probenindexpaaren (UDIs) kann das Multiplexing mit Hunderten Proben gleichzeitig durchgeführt werden, ohne Sorgen bezüglich Index Hopping. Duplex-MBC erlaubt das Herausfiltern von Artefakten, die bei der PCR-Amplifikation im Rahmen der Bibliothekserstellung entstehen.

Es senkt die Zahl der falsch-positiven Leseergebnisse und verbessert die Genauigkeit der Erkennung von niedrigen VAF. Bemerkenswert ist, dass 384 UDIs und Duplex-MBC gleichzeitig genutzt werden können, was gegenüber den bestehenden XT-Produkten für geringe Eingabemengen eine Verbesserung darstellt.

Das SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit bietet zusätzliche Flexibilität im Arbeitsablauf mit MBC-markierten oder MBC-freien Kits zur Bibliothekserstellung, die entweder in Verbindung mit dem Standard- oder dem Übernacht-Hybridisierungs-Kit für die genomische Zielanreicherung verwendet werden können.

Es sind zwei Kit-Optionen erhältlich – mit und ohne AMPure® und Streptavidin-Beads. Erwerben Sie von Agilent alles, was Sie für die Erstellung von NGS-Bibliotheken benötigen, von der vorgelagerten Qualitätskontrolle bis zur nachgelagerten Probenverarbeitung in einem vollautomatischen System. Das Agilent SureSelect XT HS2 DNA-Starterkit (G9982A) vereinfacht Ihre Bestellung, da es unter einer einzigen Bestellnummer alles enthält, was Sie für die NGS-Bibliothekserstellung benötigen, einschließlich des Reagenzienkits, des enzymatischen Fragmentierungsmoduls und der Beads. Das SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit funktioniert sowohl mit der Agilent Bravo NGS Workstation als auch mit dem Agilent Magnis NGS-Prep-System.

Überlegene Leistungen des SureSelect XT HS2 DNA Reagenzien-Kits

Die Umwandlungseffizienz ist ein wichtiger Messwert zur Beurteilung der Leistungen bei der Bibliothekserstellung. Sie beschreibt den prozentualen Anteil des DNA-Inputmaterials, das vollständig in eine DNA-Adapter-ligierte Bibliothek konvertiert werden kann. Eine bessere Umwandlungseffizienz bedeutet, dass mehr DNA-Moleküle im Bibliothek-Endprodukt sequenzierbar sind. Damit erhöht sich auch die Komplexität der DNA-Bibliothek. Je höher die Bibliothekskomplexität, desto niedriger ist die Wahrscheinlichkeit, dass immer wieder die gleichen DNA-Moleküle sequenziert werden. In diesem Fall erhöht sich die Wahrscheinlichkeit einer besseren Basenabdeckung, wenn die Sequenziertiefe erhöht wird. Dies ist bei der Erkennung von niedrigen VAF bei Tumor- und Flüssigbiopsieproben besonders

wichtig. Der Grad der Umwandlung von Gefrier- und FFPE-Proben, der mit dem SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit erzielt wird, ist höher als bei den Produkten anderer Hersteller (Abb. 2).

Die grundlegenden Messparameter für die Sequenzierung, einschließlich Verdopplungsrate, Gleichmäßigkeit und 100facher Basenabdeckung, waren bei den drei Kits vergleichbar. Das SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit ist hinsichtlich Lesegenauigkeit (%) (read-on-target), 300facher Basenabdeckung und Bibliothekskomplexität signifikant überlegen (Abb. 3 und 4). Insbesondere bei 10 ng DNA-Eingangsmenge und 1000facher Rohsequenzierung ist die 300fache Basenabdeckung mit dem SureSelect XT HS2 DNA Reagenzien-Kit erheblich höher als mit den anderen beiden Kits (53,3 % im Vergleich zu 9,4 % bzw. 6,2 %).

Duplex-MBC verbessert die Erkennung von niedrigen VAF erheblich

Optionale kurze DNA-Moleküle mit einer Zufallssequenz, die als molekulare Barcodes bezeichnet werden, können beim Adapter-Ligationsschritt in die NGS-Bibliothek eingebaut werden. Diese eindeutigen Sequenzen dienen zur Identifikation einzelner DNA-Moleküle, um falsch-positive Leseergebnisse herauszufiltern, was die Variantenzuordnung genauer macht. Dies ist besonders bei der Erkennung von Varianten mit niedrigen Allelfrequenzen in heterogenen Proben wichtig, wie Tumorbiopsie- oder ctDNA-Proben.

Das SureSelect XT HS2 DNA Reagenzien-Kit erlaubt die Ermittlung von Konsensussequenzen auf Grundlage der MBC-Informationen von beiden Strängen (Duplex-MBC) bzw. von nur einem Strang (Single-MBC) oder bei Verzicht auf molekulare Barcodes (No-MBC), je nach Applikation. Sowohl Duplex- als auch Single-MBC verbessern die Genauigkeit der Erkennung von niedrigen VAF im Vergleich zu No-MBC. Duplex-MBC liefert jedoch die beste Fehlerkorrektur. Die Anzahl der falsch-positiven Leseergebnisse bei niedrigen VAF (≤ 4 % in dieser Analyse) konnte durch Duplex-MBC im Vergleich zu Single-MBC um 74 % und im Vergleich zu No-MBC um 93 % reduziert werden (Abb. 5).

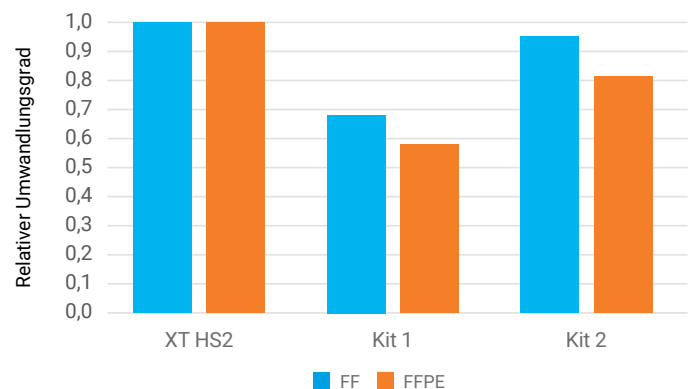


Abbildung 2. Verbesserter Umwandlungsgrad bei Gefrier-(FF-) und FFPE-Proben. 10 ng DNA aus Lungentumor-Gefrierproben und normalen Nieren-FFPE-Proben (ddCq = 1,8, DIN = 3,2) dienten als Eingangsmaterial für die Bibliothekserstellung mit dem SureSelect XT HS2 DNA Reagenzien-Kit und zwei Konkurrenzprodukten (Kit 1 und Kit 2). Für Kit 1 und Kit 2 wurden die Bibliotheken mit einem Kit zur Bibliothekserstellung von Hersteller A und verschiedenen Adapters von Hersteller B erstellt. Die Probenqualität wurde mit der Agilent TapeStation (DIN) und dem Agilent NGS FFPE QC-Kit (ddCq value) bestimmt. Die durchgeführten PCR-Zyklen waren begrenzt, um eine lineare Amplifikation sicherzustellen. Bei Berechnung der relativen Umwandlungseffizienz diente XT HS2 als Referenz.

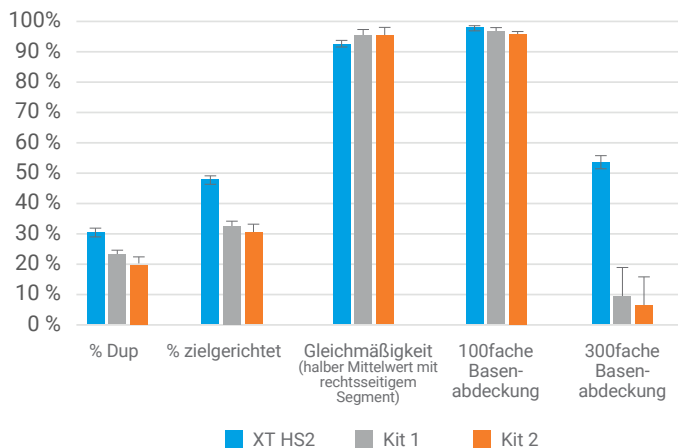


Abbildung 3. Überlegene 300fache Basenabdeckung mit 10 ng-Input-DNA einer HapMap-Probe (NA12878). Die Bibliothekserstellung und genomische Zielerreichung wurden mit dem SureSelect XT HS2 DNA Reagenzien-Kit und einem spezifischen 25-kb-Sondendesign von Agilent durchgeführt. Für Kit 1 und Kit 2 wurden die Bibliotheken mit einem Kit zur Bibliothekserstellung von Hersteller A und verschiedenen Adaptoren von Hersteller B erstellt. Die genomische Zielerreichung wurde mit einer spezifischen 25-kb-Sonde von Hersteller B für Kit 1 und Kit 2 durchgeführt. Die Bibliotheken (2 x 100 bp) wurden mit dem Illumina MiSeq System sequenziert. Die Reads wurden auf hg19 aligniert und auf eine Sequenziertiefe von 1000fach normalisiert.

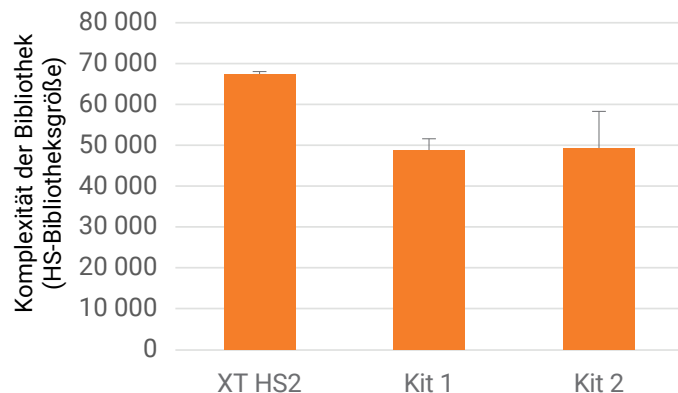


Abbildung 4. Signifikant höhere Bibliothekskomplexität. 10 ng HapMap-Probe (NA12878) wurde als Eingangsmaterial benutzt. Die Bibliothekserstellung und genomische Zielerreichung wurden mit dem SureSelect XT HS2 DNA Reagenzien-Kit und einem spezifischen 25-kb-Sondendesign von Agilent durchgeführt. Für Kit 1 und Kit 2 wurden die Bibliotheken mit einem Kit zur Bibliothekserstellung von Hersteller A und verschiedenen Adaptoren von Hersteller B erstellt. Die genomische Zielerreichung wurde mit einer spezifischen 25-kb-Sonde von Hersteller B für Kit 1 und Kit 2 durchgeführt. Die Bibliotheken (2 x 100 bp) wurden mit dem Illumina MiSeq System sequenziert. Die gelesenen Sequenzen wurden auf hg19 aligniert, auf einen Sequenziertiefe-Rohwert von 1000fach normalisiert und die Größe der HS-Bibliothek bestimmt.

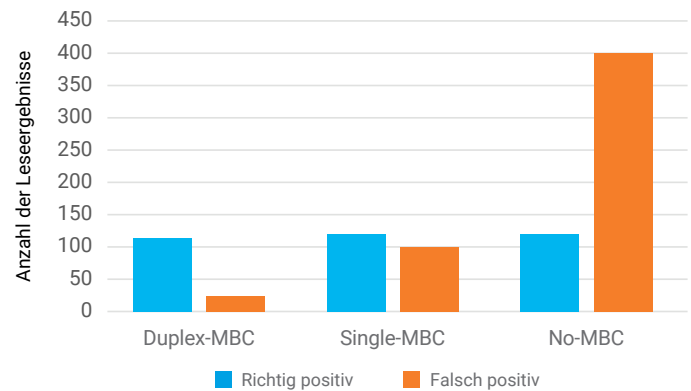


Abbildung 5. Duplex-MBC zeigen signifikant niedrigere falsch-positive Leseergebnisse bei niedriger VAF. 20 ng HapMap-Probenmischung (98 % NA12878 und 2 % NA24385) wurde als Eingangsmaterial benutzt. Die Bibliothekserstellung und genomische Zielerreichung von XT HS2 wurden mit dem SureSelect XT HS2 DNA Reagenzien-Kit und dem Agilent SureSelect Cancer All-In-One Lung Assay durchgeführt. Die Bibliotheken (2 x 100 bp) wurden mit dem Illumina MiSeq System sequenziert. Zur Bearbeitung der MBCs und Ermittlung der Konsensussequenzen jeder MBC-Familie dienten „Trimer“ und „LocatIt“ des Agilent Genomics Toolkits (AGeNT). Duplex-MBC nutzt MBC-Sequenzen von beiden Strängen als Grundlage zur Bestimmung von übereinstimmenden Sequenzvarianten, während diese mit Single-MBC nur aufgrund der Informationen eines Stranges ermittelt werden. Für diese Analyse wurden Varianten mit Allelfrequenzen $\leq 4\%$ gewählt.

Bestellinformationen

Produkt	Bestellnummer
SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit mit Index-Primer-Paaren 1–16, 16 Reaktionen	G9981A
SureSelect XT HS2 DNA-Starterkit mit Index-Primer-Paaren 1–16, 16 Reaktionen	G9982A
SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit mit Index-Primer-Paaren 1–96, 96 Reaktionen	G9983A
SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit mit Index-Primer-Paaren 97–192, 96 Reaktionen	G9983B
SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit mit Index-Primer-Paaren 193–288, 96 Reaktionen	G9983C
SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit mit Index-Primer-Paaren 289–384, 96 Reaktionen	G9983D
SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit mit AMPure® XP/Streptavidin-Beads und Index-Primer-Paaren 1–96, 96 Reaktionen	G9984A
SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit mit AMPure XP/Streptavidin-Beads und Index-Primer-Paaren 97–192, 96 Reaktionen	G9984B
SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit mit AMPure XP/Streptavidin-Beads und Index-Primer-Paaren 193–288, 96 Reaktionen	G9984C
SureSelect XT HS2 DNA-Reagenzien-Kit mit AMPure® XP/Streptavidin-Beads und Index-Primer-Paaren 289–384, 96 Reaktionen	G9984D
SureSelect XT HS2 DNA-Kit für die Bibliothekserstellung mit Index-Primer-Paaren 1–96, 96 Reaktionen	G9985A
SureSelect XT HS2 DNA-Kit für die Bibliothekserstellung mit Index-Primer-Paaren 97–192, 96 Reaktionen	G9985B
SureSelect XT HS2 DNA-Kit für die Bibliothekserstellung mit Index-Primer-Paaren 193–288, 96 Reaktionen	G9985C
SureSelect XT HS2 DNA-Kit für die Bibliothekserstellung mit Index-Primer-Paaren 289–384, 96 Reaktionen	G9985D
SureSelect XT HS2-Kit zur Bibliothekserstellung mit MBC-freien Adaptern und Index-Primer-Paaren 1–96, 96 Reaktionen	G9956A
SureSelect XT HS2-Kit zur Bibliothekserstellung mit MBC-freien Adaptern und Index-Primer-Paaren 97–192, 96 Reaktionen	G9956B
SureSelect XT HS2-Kit zur Bibliothekserstellung mit MBC-freien Adaptern und Index-Primer-Paaren 193–288, 96 Reaktionen	G9956C
SureSelect XT HS2-Kit zur Bibliothekserstellung mit MBC-freien Adaptern und Index-Primer-Paaren 289–384, 96 Reaktionen	G9956D
SureSelect XT HS2 DNA Kit für die genomische Ziellanreicherung, 12 Hybridisierungen	G9987A
SureSelect XT HS2-Kit für die genomische Ziellanreicherung, 96 Hybridisierungen	G9987B
SureSelect XT HS2-Kit für die genomische Ziellanreicherung, Hybridisierung über Nacht, 12 Hybridisierungen	G9957A
SureSelect XT HS2-Kit für die genomische Ziellanreicherung, Hybridisierung über Nacht, 96 Hybridisierungen	G9957B
SureSelect-Kit für die enzymatische Fragmentierung, 16 Reaktionen	5191-4079
SureSelect-Kit für die enzymatische Fragmentierung, 96 Reaktionen	5191-4080

www.agilent.com

Ausschließlich zu Forschungszwecken. Nicht für Diagnoseverfahren geeignet.
PR7001-3863

Änderungen vorbehalten.

© Agilent Technologies, Inc. 2020, 2023, 2025
Veröffentlicht in den USA, 20. Februar 2025
5994-1687DEE