

# SURESELECT<sup>XT HS</sup> TARGET ENRICHMENT 超微量目標外顯子組富集系統



## 安捷倫 Genomics 台灣代理 威健股份有限公司

Trusted Answers. Together.

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.  
© Agilent Technologies, Inc. 2017

**WELGENE** 威健股份有限公司  
WELGENE BIOTECH CO., LTD.

產品訂購諮詢專線 0809-072-666

連絡電話 (北) 02-6616-0001 (南) 07-5500-866

威健官網 [www.welgene.com.tw](http://www.welgene.com.tw)

客服信箱 [service@welgene.com.tw](mailto:service@welgene.com.tw)

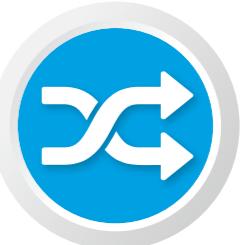
FFPE 樣品  
處理最適化



微量樣品  
超高敏感性



快速直進式  
完整流程



# SureSelect<sup>XT HS</sup>

## What is it?

SureSelect<sup>XT HS</sup> 是安捷倫 SureSelect 外顯子捕獲系統中製備 library 的最新產品，擁有最高靈敏度的 NGS library 製備及 target enrichment 效力。

### KEY FEATURES

- 只需 **10 ng** DNA 即可進行實驗。
- 適用於完整 DNA、低品質或高品質的 **FFPE DNA**。
- 分子標記 (Molecular barcode, MBC)** 有效提升 library 的陽性預測值 (positive predictive value, PPV)。
- 高複雜度**的 library 在目標區域有更高比例的 reads 數。
- 雜合時間只需 **90 分鐘**，同時採用**預混合試劑 (master-mixed reagents)**使實驗流程更快更有效率。



## 適用於 FFPE 樣品

### 優化 FFPE library 製備的重要性

雖然 FFPE 樣品是提供多種遺傳訊息有價值的來源，但從 FFPE 樣品抽取 DNA 的困難之一為純化的 DNA 是否具足夠的分子量和品質用以擴增或檢測。對於 NGS 的樣品來源而言，通常 FFPE DNA 用於製備 library 時，其 DNA 的降解多太嚴重。因此，優化 library 製備流程並盡可能減少樣品流失的步驟是非常重要的。

### 優化的 FFPE library 製備流程

SureSelect<sup>XT HS</sup> 適用於各種組織類型，包括新鮮的和 FFPE 樣品，皆能產生高複雜度的 library，其在目標區域具有更高比例的 reads 數，且起始樣品只需 10 ~ 200 ng。為提高不同品質 FFPE 樣品單核苷酸變異 (single nucleotide variant, SNV) 的識別和一致性，安捷倫開發出完整的實驗流程解決方案，其中包含 DNA 品管 (FFPE QC Kit) 以及 4200 TapeStation 系統) 與單管 library 製備等技術。

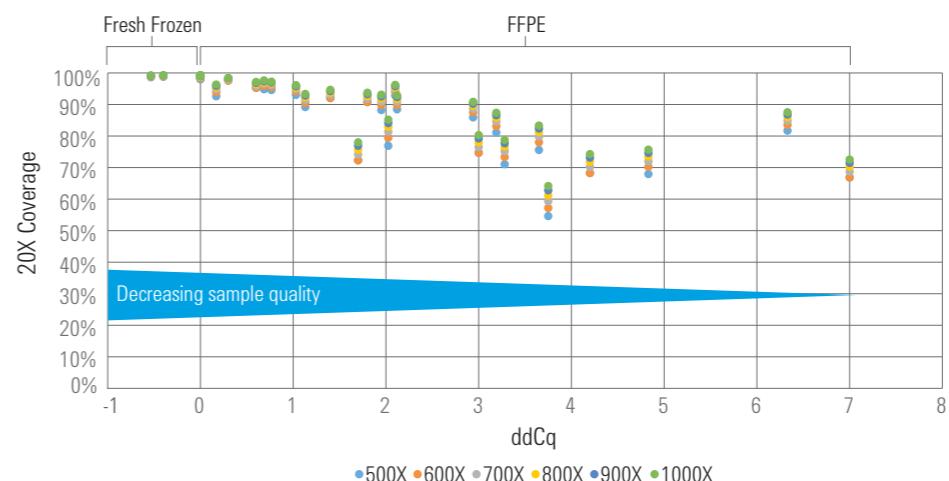


Figure 1. SureSelect<sup>XT HS</sup> optimized performance for FFPE with the majority of bases covered at 20X across decreasing sample quality. % bases covered by at least 20X read depth with increasing sequencing depth (4-8 million - 2x100 bp reads) is plotted against gDNA quality (qPCR-based gDNA quality (ddCq) and is calculated using Agilent's FFPE QC Assay kit).

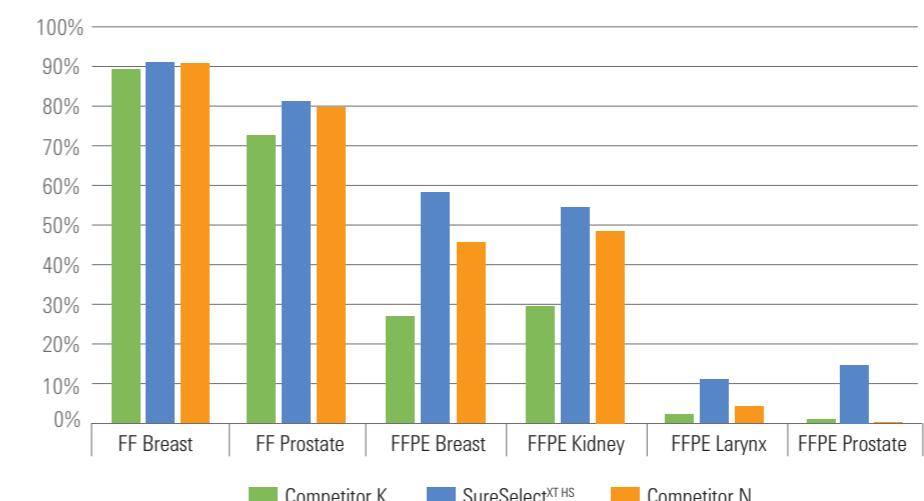


Figure 2. SureSelect<sup>XT HS</sup> outperforms other library prep solutions at 100X coverage, especially as sample quality decreases: % bases covered by at least 100X read depth is plotted against gDNA of decreasing quality (qPCR-based gDNA quality (ddCq) and is calculated using Agilent's FFPE QC Assay kit (based on 1000X sequencing depth with 8 million - 2x100bp reads).



### 優勢

- 改善來自 FFPE DNA 的 SNV calling
- 減少製備 library 的步驟以防止 DNA 流失
- 低品質和高品質的 DNA 皆能產生較高複雜度的 library

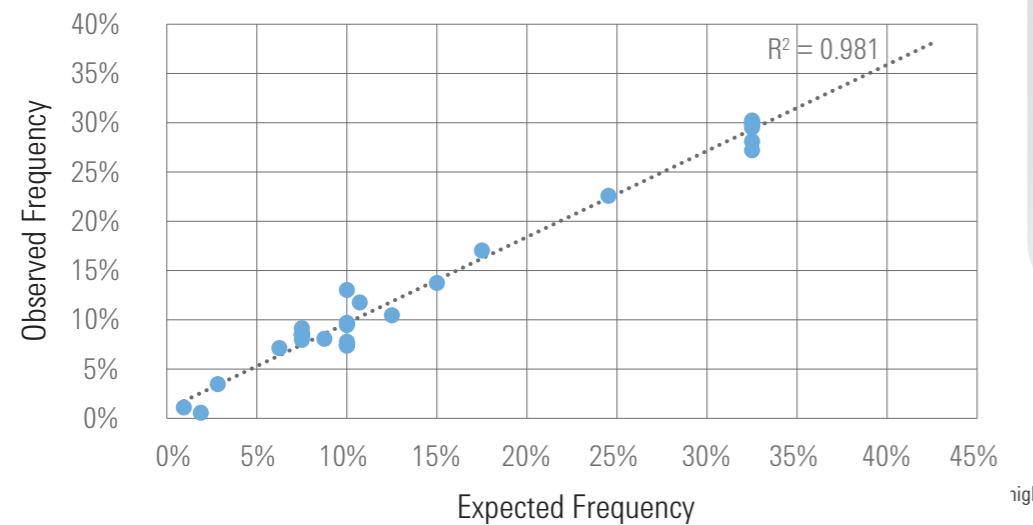
# 絕佳的偵測靈敏度

## 高靈敏度的重要性

靈敏度是指正確識別真正變異的百分比。在大多數情形下，偵測靈敏度受限於起始材料含量、分析效能、PCR 和測序錯誤率。因此，傳統 NGS 分析的誤差通常受到由於腫瘤異質性 (tumor heterogeneity) 導致低頻率變異檢測可信度的影響。

## SureSelect<sup>XT HS</sup> 具有優越的靈敏度

SureSelect<sup>XT HS</sup> 結合分子標記 (Molecular barcode)，能過濾掉在 library 製備、target enrichment 和定序過程中產生的人工誤差 (artifacts) 而導致的偽陽性變異 (false positive variants)。SureSelect<sup>XT HS</sup> 的分子標記為業界領先的指標，可讓檢測變異頻率的解析度靈敏至  $\leq 1\%$ 。這是相當重要的，因為大多數使用者採用可信度閾值，並且只識別高於 3~5% 等位基因的變異頻率。



**Figure 3. Detect down to 1% allele frequency.**  
correlation of observed to expected frequency down to as little as 1% VAF (HD200 Quantitative Multiplex Reference Standard and ClearSeq Comprehensive Cancer Panel).



### 優勢

- 檢測  $\leq 1\%$  頻率的變異。
- 消除限制 NGS 灵敏度的擴增和定序人工誤差 (artifacts)。
- 提升數據品質，增加對少至 10 ng DNA 起始數量定序結果的信心。

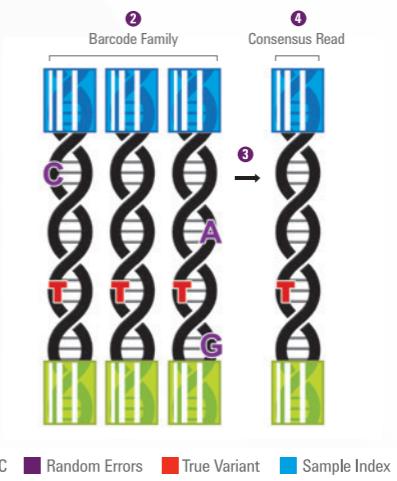
# Molecular Barcodes

## 什麼是分子標記技術 (molecular barcodes) ?

分子標記為一種擁有獨特序列的 DNA 片段並接附於原始的片段化 DNA 樣品上，這些獨特 DNA 序列是由隨機核苷酸、共通性核苷酸及定義性的核苷酸所組成，每個片段化 DNA 樣品能藉由其獨一無二的分子標記來追溯其同源性。

### Basic molecular barcode (MBC) analysis

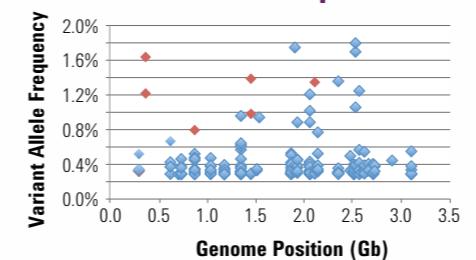
- Step ① Align reads
- Step ② Group read pairs to designed probes based on read start-stop position
- Step ③ Group reads with an identical molecular barcode sequence for each probe
- Step ④ Consolidate read information to one read per molecule (remove PCR duplicates)



## 分子標記的重要性？

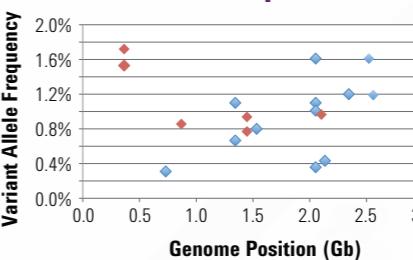
DNA 樣品在一連串的 PCR 過程中有可能會產生錯誤並且導致定序數據分析結果的整體錯誤率提升，這些 PCR 錯誤或者偽陽性 (false positives) 會減低對於真實變異位點的偵測敏感性，尤其是微量樣品實驗情況下會更為明顯，例如 tumor subpopulations 這種異質 (heterogeneous) 細胞群體分析的數據正確性就會受到影響。分子標記的技術可以去除偽陽性結果並進行序列錯誤校正來達到更好的變異判斷 (variant calling)，讓使用者有效偵測到低頻率 (low-frequency) 變異。

### Standard deduplication



◆ SNVs verified by Horizon ◆ Other non-reference bases detected but not on the list provided by Horizon

### MBC deduplication



**Figure 4. Improved data quality with molecular barcodes (MBC) analysis.** Targeted sequencing of SureSelect<sup>XT HS</sup> libraries from Horizon cfDNA reference and a custom 164 kb SureSelect panel achieved a median coverage of 808(standard) / 906(MBC) after deduplication. 216 non-reference alleles were detected at a variant allele frequency of less than 2% with standard deduplication compared to 18 using the MBC. This represents a 92% reduction in false calls. Courtesy of Dr. L.J. Barber and Dr. M. Gerlinger, Centre for Evolution and Cancer, The Institute of Cancer Research, London, UK.

### 優勢

- 藉由去除偽陽性來增加偵測低頻度變異的效能。
- 提升正確性來判斷  $\leq 1\%$  variant allele frequency (VAF) 的生物關聯性變異。

# SureSelect<sup>XT HS</sup>

## 精簡直進式的實驗流程

### 迅速的分析及直進式的實驗

SureSelect<sup>XT HS</sup> 減少許多獨立的酵素實驗步驟、clean-up 純化步驟和樣品轉移，讓使用者能有直進流暢式的實驗流程，特別在如 10 ng 的微量樣品中依然能保持其 library 的高複雜度特性，安捷倫帶來市面上最快的雜合 (hybridization) 速度，90 分鐘的雜合反應採用 master-mixed 版本的試劑，讓您從初始樣品到可上機的 libraries 只需一天之內即可完成，此外也能支援高達 32 個樣品的 multiplex sequencing 實驗。

### Create a Targeted Capture Panel

#### Genomic locations of interest

Design target sequences in SureDesign

#### Capture Library (SureSelect or ClearSeq)

### Library Preparation

#### Genomic DNA samples (10 ng - 200 ng DNA per sample)

Shear DNA

#### DNA fragments of 150 - 200 bp

Prepare samples using SureSelect<sup>XT HS</sup> Library Prep Kit

#### Molecular barcode & indexed DNA libraries

PCR amplify

#### Prepared DNA libraries

Hybridize using SureSelect<sup>XT HS</sup> reagents and protocol

#### Capture Library/prepared DNA library hybrids

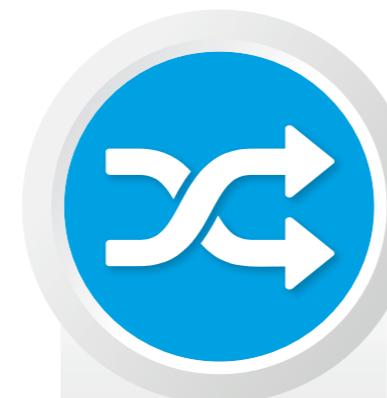
Capture hybrids on magnetic beads

#### Captured libraries

PCR amplify

Pool captured samples (Optional)

#### SureSelect-enriched indexed NGS samples



### 優勢

- 更快的 90 分鐘雜合作用及 master-mixed 試劑來達到高效率的樣品處理。
- 從樣品到可上機的 libraries 製備只需不到一天。
- Agilent SureCall 軟體提供直進流暢的數據分析。

## SureSelect Library 製備與目標富集解決方案

安捷倫提供多樣的 library 製備與目標富集解決方案來符合您各種體質醫學及癌症研究的相關應用，起始樣品最低 10 ng，最高也僅需要 3 ug 的 DNA 即能適用於 library 製備和後續的 ClearSeq Panel、SureSelect Exome 或 Custom Panel 等目標抓取與富集實驗分析。



SureSelect Library Prep Solutions for Cancer and Constitutional Applications					
Product Name	SureSelect <sup>XT HS</sup>	SureSelect <sup>XT Low Input</sup>	SureSelect <sup>XT</sup>	SureSelect <sup>XT2</sup>	SureSelect <sup>XT</sup>
DNA Input	10 ng - 200 ng	10 ng - 200 ng	200 ng - 3 µg	100 ng - 1 µg	50 ng
Turnaround Time	8 hr	8 hr	1.5 day	1.5 day	7 hours
Covaris Needed	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Library Complexity	Highest	Highest	High	Medium	Medium
Unique Features	FFPE optimized Molecular barcodes Mastermixed reagents Samples indexed prior to capture eliminating concern of cross sample contamination	FFPE optimized Molecular barcodes (optional) Mastermixed reagents Samples indexed prior to capture eliminating concern of cross sample contamination	Compatible with FFPE samples Robust variant identification	Pre-capture pooling Mastermix reagents	Transposase-based Mastermix reagents Whole genome sequencing and target enrichment compatible For intact DNA only
Key Benefits	High sensitivity for ≤1% VAF	192 sample indexes	High-complexity libraries for rare allele detection	Cost-effective	Covaris-free workflow