

SureSelect XT HS2 DNA 試薬キット

Because flexibility and performance matter

主な特長：

- 高品質の DNA、FFPE由来の DNA のいずれも最小 10 ng のインプット量で高品質のライブラリを作製可能
- DNA の断片化方法は機械的断片化と酵素による断片化を選択可能
- 384 種の Unique dual index (UDI) によりインデックスホッピングを減少させ、スループットを最大化
- Duplex 分子バーコードを使うことで偽陽性を減らし、低頻度の変異をより正確に検出
- オプションの分子バーコードなしのアダプターを使用することで生殖細胞系列のアプリケーションに対応し、シーケンスの収量を最大化可能
- 二つのハイブリダイゼーションワークフローを選択できる高い柔軟性
- NGS ライブラリ調製とターゲットエンリッチメントに必要なものを、ビーズを含めてすべて単一のベンダーから提供

概要

アジレントの SureSelect XT HS2 DNA 試薬キットは、最先端の NGS ライブラリ調製・ターゲットエンリッチメントソリューションです。効率的でフレキシブルなワークフローで優れたパフォーマンスを発揮し、多様な NGS アプリケーションに使用可能なさまざまな特長があります (図 1)。NGS ライブラリ調製のさまざまなニーズに応えるための機能をすべて含む試薬キットです。ワークフローは、がん研究に重要となる FFPE サンプルに最適化されています。384 種までの Unique dual index (UDI) が使用可能で、サンプルスループットの高い施設でも同時に数百サンプルのシーケンスを行うことができます。DNA の両ストランドの分子バーコード情報 (duplex MBC) を利用してコンセンサスコールを生成することで、リキッドバイオプシーのアプリケーションでは非常に重要となる低頻度の変異検出の正確性を大幅に改善することができます。分子バーコードなしのアダプターを使用することで、生殖細胞系列アプリケーションのシーケンスアウトプットがさらに向上します。ファスト・ハイブリダイゼーションとオーバーナイト・ハイブリダイゼーションワークフローのオプションにより、ワークシフトの柔軟性が向上します。精製用ビーズや品質管理、自動化、解析ソリューションまで、アジレントはワンストップでご提供しています。

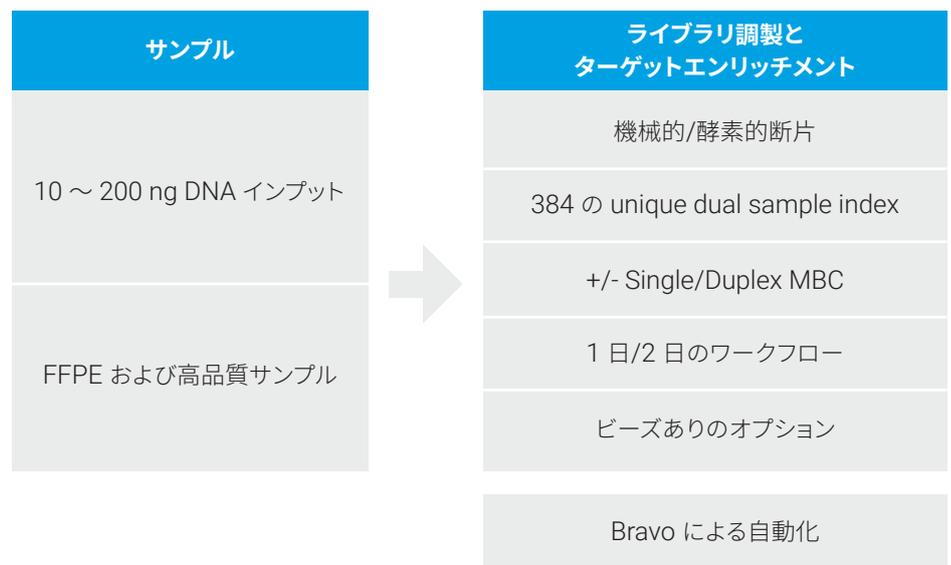


図 1. SureSelect XT HS2 DNA 試薬キットは柔軟性が高く、さまざまな機能があり、NGS ライブラリ調製のさまざまなニーズに対応可能。

NGS ライブラリ調製のさまざまなニーズに応える試薬キット

SureSelect XT HS2 DNA 試薬キットはワークフローが非常に柔軟で、さまざまな特性をもつため、必要に合わせて最適なワークフローを選択することができます。本キットは幅広い範囲の DNA インプット量 (10 ~ 200 ng)、サンプルのタイプ (高品質サンプルまたは FFPE サンプル)、断片化方法 (機械的または酵素法)、シーケンシング長 (2 x 100 bp または 2 x 150 bp) に対して最適化されています。90 分のファスト・ハイブリダイゼーションを利用して 1 日でライブラリを作製することも可能ですし、ワークフローを 2 日間に分けることも可能です。16 時間のオーバーナイト・ハイブリダイゼーションは、プローブを再設計する必要なく、2 日間でライブラリを濃縮するもう一つのオプションです。最大 384 種類の Unique dual index を使用することでインデックスホッピングを気にせず、数百サンプルを一度に解析することも可能です。また、Duplex 分子バーコードを使用して、ライブラリ調製過程の PCR 増幅により入ってしまったアーチファクトを除去することができます。このプロセスにより偽陽性のコールを大幅減らすことができ、低頻度の変異の検出精度が改善されます。384 種類の Unique dual index と Duplex 分子バーコードを同時に使えるようになったことが SureSelect XT Low Input キットからの大きな改善点です。

SureSelect XT HS2 DNA 試薬キットには、分子バーコード付きまたは分子バーコードなしのライブラリ調製キットがあり、標準またはオーバーナイト・ハイブリダイゼーションのターゲット濃縮キットのいずれかと組み合わせ使用できるため、ワークフローの柔軟性がさらに高まります。

キット構成には AMPure・ストレプトアビジンビーズを含むものと含まないものの 2 つのオプションがあります。NGS ライブラリ調製に必要な試薬を複数のベンダーから購入する必要はなく、インプット DNA の品質管理からデータ解析までアジレントから購入いただけます。SureSelect XT HS2 DNA スターターキット (G9982A) には試薬、断片化酵素、ビーズがすべて含まれており、1 つの型番を発注いただければ必要なものがすべてそろいます。SureSelect XT HS2 DNA 試薬キットはアジレントの Bravo 自動化システムにも対応しており、将来的には全自動の自動化システムである Magnis 自動化システムにも対応予定です。

SureSelect XT HS2 DNA 試薬キットの優れたパフォーマンス

ライブラリ調製試薬のパフォーマンスを評価するうえで変換効率は重要な指標です。変換効率としては、インプット DNA のうち最終的にアダプタが付加されたライブラリになったパーセンテージを測定します。変換効率がより良好であれば、できあがったライブラリでより多くの DNA 分子がシーケンス可能で、ライブラリの複雑性 (complexity) として測定することができます。ライブラリ複雑性が高ければ、同じ DNA 分子を何度も読んでしまう確率が低いと考えることができます。したがって、シーケンス量を増やした際により高いベースカバレッジを得ることができると考えられます。この点は、がんサンプルやキッドバイオプシーサンプルで低頻度の変異を検出する際に非常に重要です。SureSelect XT HS2 DNA 試薬キットは、新鮮凍結サンプルでも FFPE サンプルでも他社製品よりも良好な変換効率を示します (図 2)。基本的なシーケンシング結果の指標である Duplication rate、Uniformity、100x ベースカバレッジについては 3 キットでほぼ同等でした。しかしながら、SureSelect XT HS2 試

薬キットは on-target % と 300x ベースカバレッジ、ライブラリの複雑性が他社キットより優位に高いという結果になりました (図 3 および 4)。とくに、10 ng のインプット DNA で 1,000x のシーケンシング量では、300x ベースカバレッジが SureSelect XT HS2 DNA 試薬キットでは 53.3 % と、ほかの 2 キット (それぞれ 9.4 %、6.2 %) と比べて非常に高い値が得られています。

Duplex MBC により低頻度の変異の検出精度が大幅に改善

NGS ライブラリ調製のアダプタライゲーションのステップで、分子バーコードと呼ばれる短く、ランダムな DNA 配列が付加できます (分子バーコードの付加は選択可能)。これらの配列が個々の DNA 分子を識別するために使われ、偽陽性コールを排除し、より正確な変異コールが可能になります。この特長はがんの生検組織や ctDNA サンプルなど、複雑性の高いサンプルから低頻度の変異を検出するために重要となります。

SureSelect XT HS2 DNA 試薬キットではアプリケーションにあわせて、両側のストランドの分子バーコードの情報を使用 (duplex MBC)、片側のストランドの分子バーコードの情報を使用 (single MBC)、あるいは分子バーコードの情報を使用せず (no MBC) にコンセンサス配列を得ることができます。Duplex MBC、single MBC とともに、no MBC と比較すると低頻度の変異検出の正確性が上がりますが、duplex MBC が最も効率よくエラー補正を行うことができます。Duplex MBC により、低頻度 (本解析では 4 % 以下) の偽陽性コールが、single MBC と比較すると 74 %、no MBC と比較すると 93 % 減少しました (図 5)。



図 2. 新鮮凍結サンプルと、FFPE サンプルのどちらに対しても変換効率が向上。

肺癌新鮮凍結サンプルおよび正常腎臓の FFPE サンプル (ddCq = 1.8, DIN = 3.2) の DNA 10 ng をインプットとして SureSelect XT HS2 DNA 試薬キットおよび他社キット (キット 1 およびキット 2) を用いて NGS ライブラリ調製を行った。キット 1 およびキット 2 について、ライブラリ調製試薬部分は共通で、異なるアダプタを用いている。サンプルの品質は Agilent TapeStation (DIN) および Agilent NGS FFPE QC キット (ddCq 値) を用いて評価した。線形増幅を超えないよう、限定したサイクル数で PCR を行った。XT HS2 に対する相対変換効率を計算した。

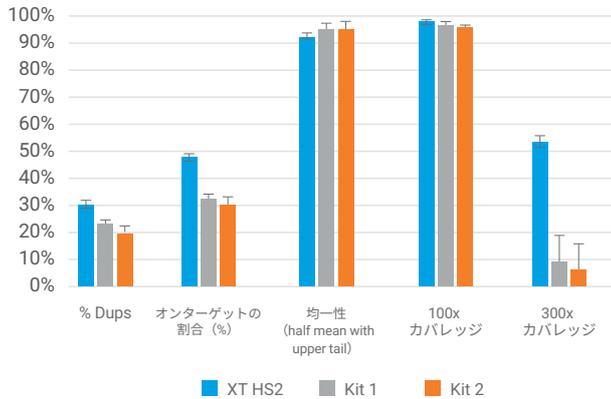


図 3. 10 ng インプットで優れた 300x カバレッジ。

HapMap サンプル (NA12878) 10 ng をインプットとしSureSelect XT HS2 DNA 試薬キットおよび 25 kb カスタムプローブ (アジレント) を使用してライブラリ調製とターゲットエンリッチメントを行った (XT HS2)。キット 1 およびキット 2 についてライブラリ調製試薬部分は共通で、異なるアダプタを用いた。キット 1 およびキット 2 は 25 kb のカスタムプローブ (他社) を使用してターゲットエンリッチメントを行った。ライブラリは Illumina MiSeq でシーケンスを行った (100 bp x 2)。リードは hg19 にマップし、シーケンス量は 1,000x にノーマライズした。

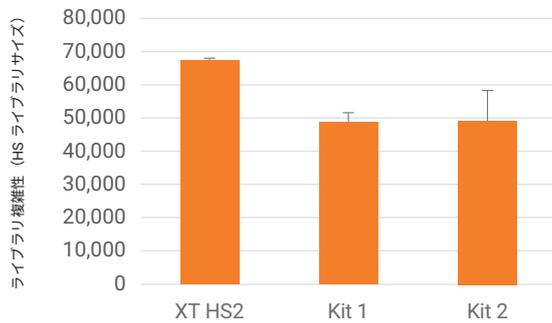


図 4. 他社のキットと比較して優れたライブラリ複雑性。

HapMap サンプル (NA12878) 10 ng をインプットとしSureSelect XT HS2 DNA 試薬キットおよび 25 kb カスタムプローブ (アジレント) を使用してライブラリ調製とターゲットエンリッチメントを行った (XT HS2)。キット 1 およびキット 2 についてライブラリ調製試薬部分は共通で、異なるアダプタを用いた。キット 1 およびキット 2 は 25 kb のカスタムプローブ (他社) を使用してターゲットエンリッチメントを行った。ライブラリは Illumina MiSeq でシーケンスを行った (100 bp x 2)。リードは hg19 にマップし、シーケンス量は 1,000x にノーマライズし、ライブラリサイズを測定した。

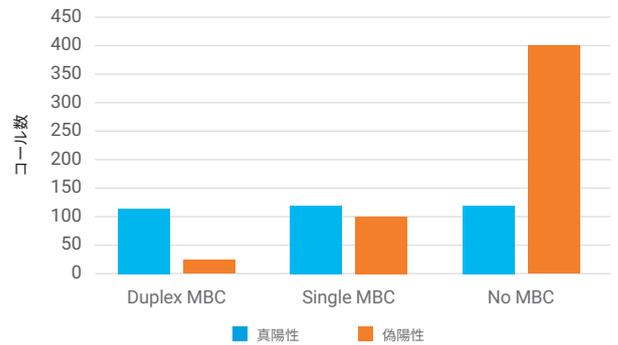


図 5. Duplex MBC により低頻度の偽陽性コールが減少。

HapMap サンプルのミックス (98 % NA12878 および 2 % NA24385) 20 ng をインプットとしてSureSelect XT HS2 DNA 試薬キットおよび Agilent SureSelect Cancer All-In-One Lung アッセイを使用してライブラリ調製とターゲットエンリッチメントを行った。ライブラリは Illumina HiSeq 4000 でシーケンスを行った (100 bp x 2)。リードは hg19 にマップし、シーケンス量は 10,000x にノーマライズした。分子バーコードを処理し、各 MBC ファミリーに対するコンセンサスリードを作成するために、Agilent Genomics Toolkit (AGeNT) の Trimmer ツールおよび LocatIt ツールを使用した。Duplex MBC は両方のストランドの MBC 配列を使ってコンセンサス・バリエーションコールを生成し、single MBC はストランド情報を考慮せずにコンセンサスリードを生成した。4 % 以下の頻度のバリエーションを解析の対象とした。

製品情報

製品	型番
SureSelect XT HS2 DNA 試薬キット (index primer pairs 1-16), 16 反応	G9981A
SureSelect XT HS2 DNA スタータキット (index primer pairs 1-16), 16 反応	G9982A
SureSelect XT HS2 DNA 試薬キット (index primer pairs 1-96), 96 反応	G9983A
SureSelect XT HS2 DNA 試薬キット (index primer pairs 97-192), 96 反応	G9983B
SureSelect XT HS2 DNA 試薬キット (index primer pairs 193-288), 96 反応	G9983C
SureSelect XT HS2 DNA 試薬キット (index primer pairs 289-384), 96 反応	G9983D
SureSelect XT HS2 DNA 試薬キット (AMPure XP/ストレプトアビジンビーズおよび index primer pairs 1-96), 96 反応	G9984A
SureSelect XT HS2 DNA 試薬キット (AMPure XP/ストレプトアビジンビーズおよび index primer pairs 97-192), 96 反応	G9984B
SureSelect XT HS2 DNA 試薬キット (AMPure XP/ストレプトアビジンビーズおよび index primer pairs 193-288), 96 反応	G9984C
SureSelect XT HS2 DNA 試薬キット (AMPure XP/ストレプトアビジンビーズおよび index primer pairs 289-384), 96 反応	G9984D
SureSelect XT HS2 DNA ライブラリ調製キット (index primer pairs 1-96), 96 反応	G9985A
SureSelect XT HS2 DNA ライブラリ調製キット (index primer pairs 97-192), 96 反応	G9985B
SureSelect XT HS2 DNA ライブラリ調製キット (index primer pairs 193-288), 96 反応	G9985C
SureSelect XT HS2 DNA ライブラリ調製キット (index primer pairs 289-384), 96 反応	G9985D
SureSelect XT HS2 ライブラリ調製キット (分子バーコードなし, index primer pairs 1-96), 96 反応	G9956A
SureSelect XT HS2 ライブラリ調製キット (分子バーコードなし, index primer pairs 97-192), 96 反応	G9956B
SureSelect XT HS2 ライブラリ調製キット (分子バーコードなし, index primer pairs 193-288), 96 反応	G9956C
SureSelect XT HS2 ライブラリ調製キット (分子バーコードなし, index primer pairs 289-384), 96 反応	G9956D
SureSelect XT HS2 DNA ターゲットエンリッチメントキット, 12 ハイブリダイゼーション	G9987A
SureSelect XT HS2 ターゲットエンリッチメントキット, 96 ハイブリダイゼーション	G9987B
SureSelect XT HS2 ターゲットエンリッチメントキット, オーバーナイト・ハイブリダイゼーション, 12 ハイブリダイゼーション	G9957A
SureSelect XT HS2 ターゲットエンリッチメントキット, オーバーナイト・ハイブリダイゼーション, 96 ハイブリダイゼーション	G9957B
SureSelect 酵素フラグメンテーションキット, 16 反応	5191-4079
SureSelect 酵素フラグメンテーションキット, 96 反応	5191-4080

[お問い合わせ窓口]

アジレント・テクノロジー株式会社

本社 / 〒192-8510 東京都八王子市高倉町9-1

●カスタマコンタクトセンター ☎ 0120-477-111

mail : email_japan@agilent.com

※仕様は予告なく変更する場合があります。

※本資料掲載の製品はすべて研究用です。

診断目的にご利用いただくことはできません。

G230571

<http://www.agilent.com/chem/genomics:jp>

© Agilent Technologies, Inc. 2020, 2023

本書の一部または全部を画面による事前の許可なしに複製、
改変、翻訳することは、著作権法で認められている場合を除き、
法律で禁止されています。

Printed in Japan, June 1, 2023

5994-1687JAJP



www.agilent.com/genomics/XTHS2DNA-ja