

信頼における先進的なテクノロジーを 活用した、高性能なエクソーム

主な特長

- 信頼における先進的なテクノロジー
- 信頼性の高い結果と効率的なシーケンスを実現する優れたパフォーマンス
- 包括的なコンテンツに対するより高いカバレッジ
- 自動化対応
- クラウドベースのインフォマティクスツールとの連携により、結果を得るまでの時間を短縮

製品の概要

SureSelect Human All Exon V8 は、RefSeq、CCDS、GENCODE データベースの最新の情報に基づいてタンパク質コード領域をカバーする、包括的なコンテンツ^{*}を搭載しています。また、*TERT* プロモーターや、他社のエクソームでは除外されているようなキャプチャの難しいエクソンもカバーしています。機械学習に基づくプローブデザインと新しい製造プロセスを採用しており、SureSelect Human All Exon V8 は、わずか 41.6 Mb の効率的なデザインサイズにより、ヒトゲノムの 35.1 Mb ターゲット領域をカバーしています。このデザインにより、優れたターゲットエンリッチメント性能と、効率的で費用対効果が高いエクソームシーケンシングを実現します。さらに、パネルは大規模なバッチで生産されており、少量で生産する場合と比べ、一貫性のある結果を得ることができます。

SureSelect Human All Exon V8 は、従来より使用されている SureSelect XT ターゲットエンリッチメントシステムのほか、90 分という短時間のハイブリダイゼーションプロトコルを採用し 1 日でのサンプル調製も可能な SureSelect XT HS2、SureSelect XT HS、SureSelect XT Low Input、SureSelect QXT ライブラリ調製・ターゲットエンリッチメントシステムとともに使用可能です。V8 エクソームワークフローは、ハイスループットのサンプル調製を実現する Bravo NGS 自動化システムおよび全自動の Magnis NGS Prep システムと互換性があります。シーケンスデータをバリエーションの解釈、レポートの作成が可能な Alissa Interpret を使用して迅速に処理することができ、包括的なエクソームシーケンスソリューションを提供します。

10年以上の実績を基盤とした、最新のエクソーム

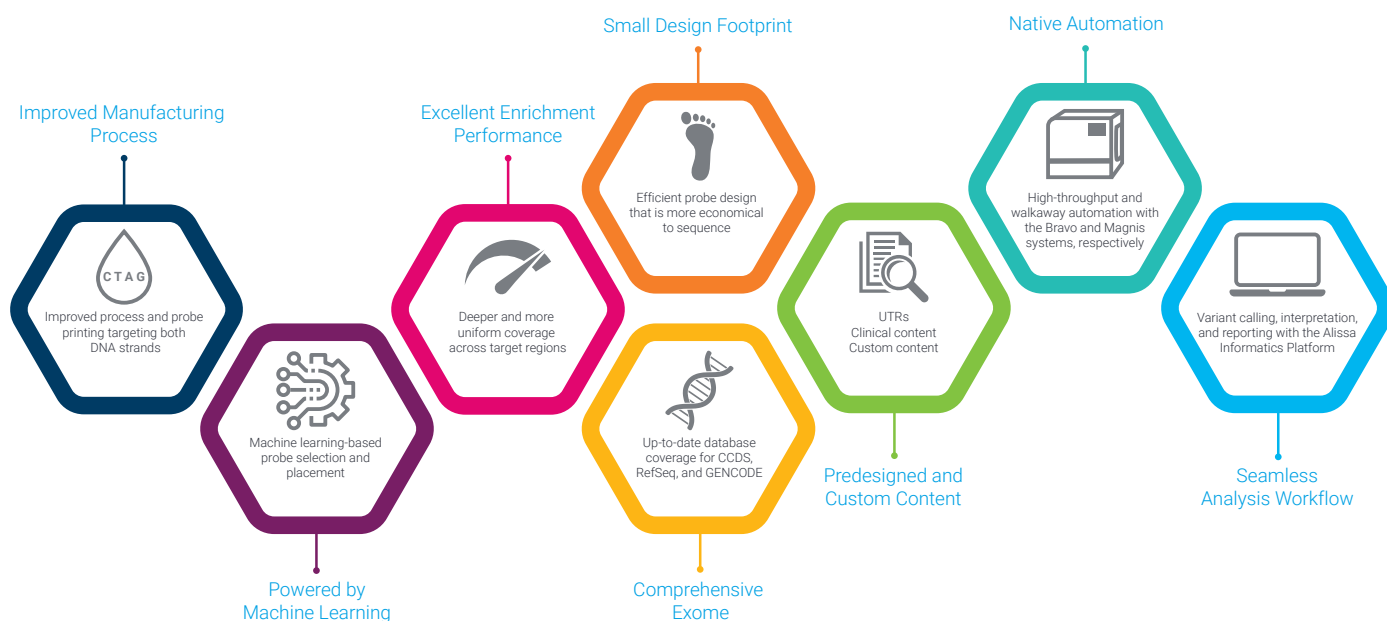


図 1. デザインの先進性

新しい Human All Exon V8 は 10 年以上に及ぶ SureSelect の技術を基盤に、機械学習によってカバレッジと効率性が向上しています。

優れたカバレッジと均一なリード分布により確実な結果を

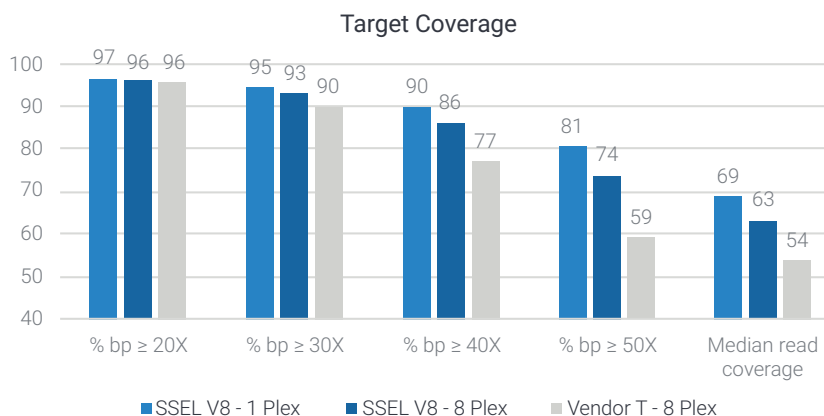


図 2. SureSelect Human All Exon V8 は 20X ~ 50X の幅広いレンジでの高いカバレッジおよび高いカバレッジ中央値を示し、これまで以上に確実にバリエーションを検出可能

エクソームライブラリは各社のプロトコル[※]に従って調製し、Illumina HiSeq 4000 でシーケンスを行いました。すべてのサンプルについて、データ量を 5 Gb に標準化して解析を行いました。

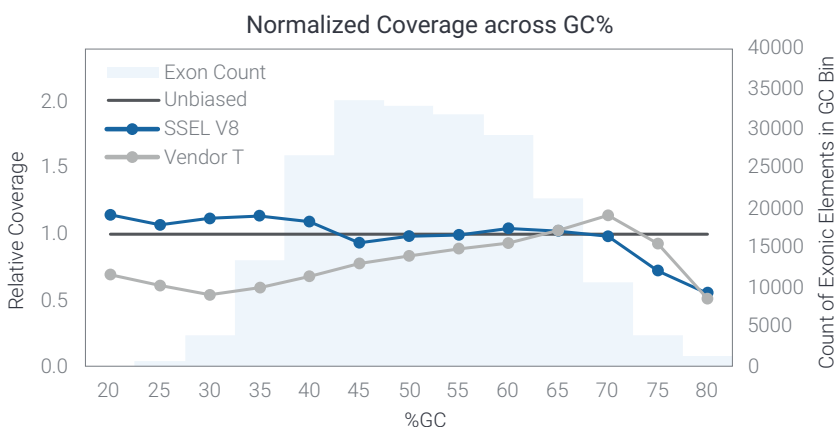


図 3. SureSelect Human All Exon V8 は幅広い GC 含量に対してより均一なカバレッジを示す

GC 含量が高い領域・低い領域共に良好なカバレッジを示し、これらの領域で低カバレッジのためにバリエーションを見逃す可能性が低いと考えられます。エクソームライブラリは 8-plex のプロトコルで各社のプロトコル[※]に従って調製し、Illumina HiSeq 4000 でシーケンスを行いました。すべてのサンプルについて、データ量を 5 Gb に標準化して解析を行いました。

パフォーマンスの良いエンリッチメントによる効率的なシーケンス

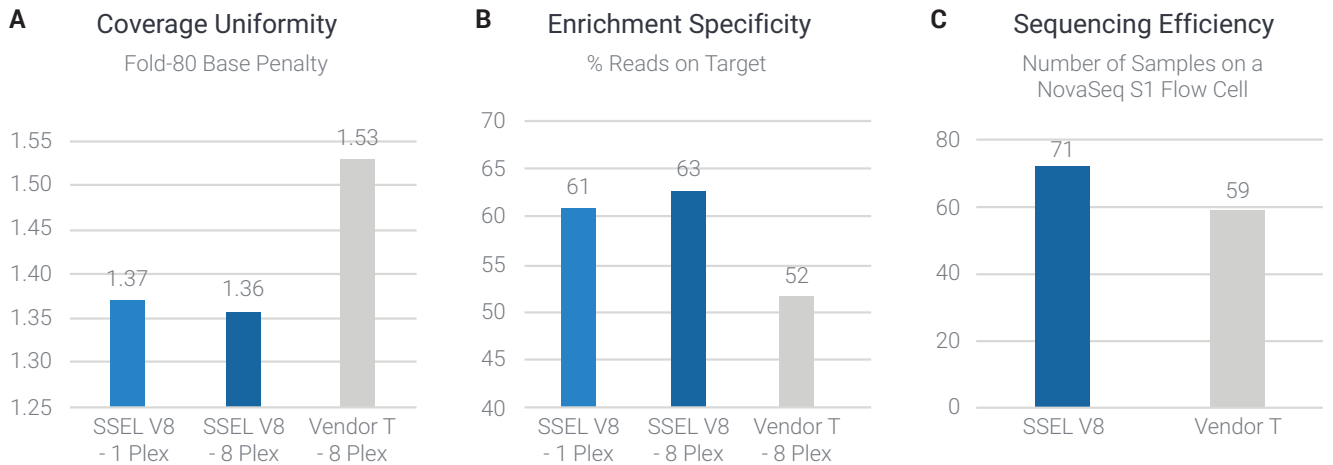


図 4. SureSelect Human All Exon V8 は優れたエンリッチメントパフォーマンスを示し、シーケンスコストを削減可能

A) SureSelect Human All Exon V8 はfold-80 base penalty（数値が低いほうが高いパフォーマンス）で測定されるカバレッジ均一性に優れています。B) オンターゲット率についても優れており、エクソン領域に対して高い特異性であることが示されました。C) SureSelect Human All Exon V8 の効率的なデザインと高いパフォーマンスにより、シーケンスコストを削減し、より多くのサンプルを1回のシーケンスランに載せることが可能になります。エクソームライブラリは 8-plex のプレプールで各社のプロトコルに従って調製し、90%の領域が 30X 以上のカバレッジを達成するために必要なシーケンス量をもとに、NovaSeq S1 フローセルで同時にシーケンス可能なサンプル数を計算しました。

優れたエクソームカバレッジ

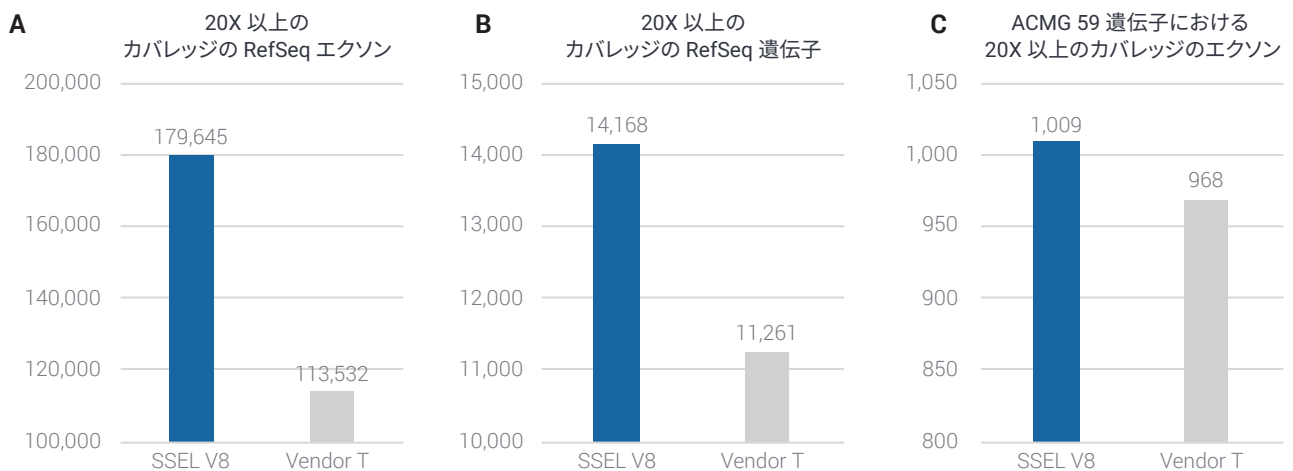


図 5. SureSelect Human All Exon V8 パネルは優れたエクソームカバレッジを実現

SureSelect Human All Exon V8 パネルは、他社製品と比べ、RefSeq エクソンでは 58%(A)、RefSeq 遺伝子では 26%(B) 多くの領域で 20X 以上のカバレッジが得られています。(C) また、臨床的に有用な ACMG59 遺伝子では、SureSelect Human All Exon V8 パネルは、より多くのエクソンで 20X 以上のカバレッジが得られています。エクソームライブラリは 8-plex のプレプールで各社のプロトコルに従って調製し、Illumina HiSeq 4000 で 2x100bp リードを用いてシーケンスを行いました。すべてのサンプルについて、データ量を 5 Gb に標準化して解析を行いました。

希少疾患に関連する遺伝子に対するより高いカバレッジ

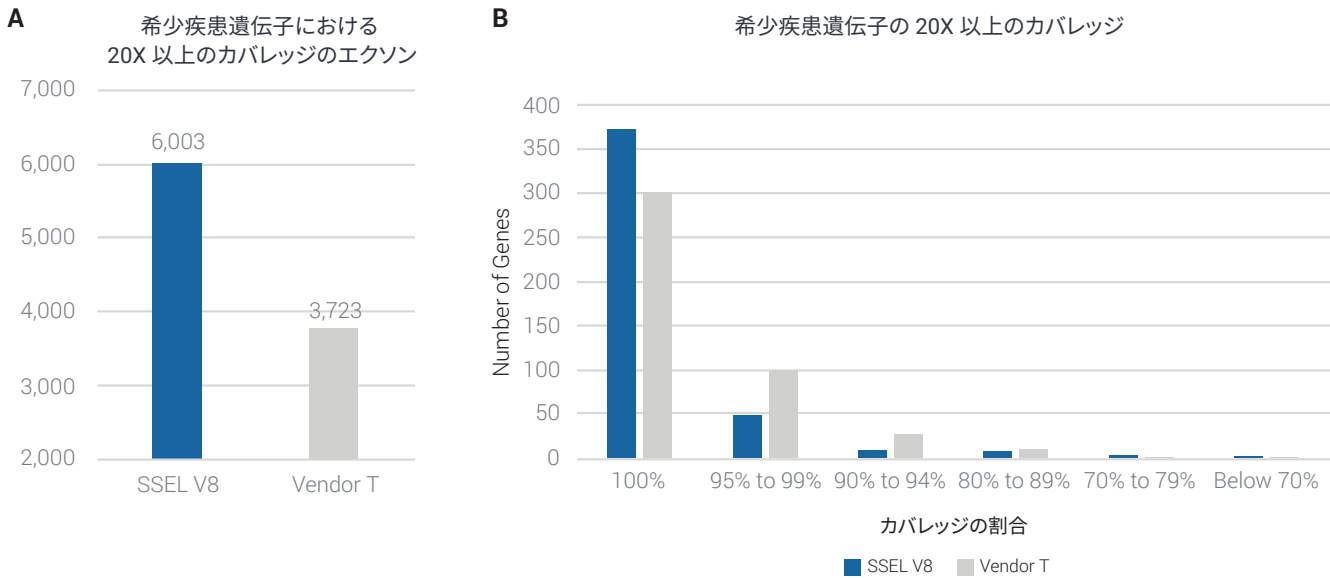


図 6. SureSelect Human All Exon V8 パネルは希少疾患に関連する遺伝子に対するより高いカバレッジを示し、疾患の原因となるバリエーションをより優れた感度で検出可能
 小児の潜在性遺伝疾患 448 種に対応する 438 遺伝子パネルのカバレッジをエクソンレベルと遺伝子レベルで解析しています。A) SureSelect Human All Exon V8 パネルは 438 種の遺伝子について、エクソンレベルで優れたカバレッジを示しています。他社製品と比べ、60% 多くのエクソンで 20X 以上のカバレッジが得られています。B) また、SureSelect Human All Exon V8 パネルは、他社製品と比べ、100% の塩基が 20X 以上のカバレッジである場合を完全にカバーとした際に、完全にカバーする遺伝子が 24% 多いことも示されています。エクソームライブラリは 8-plex のプレプルーで各社のプロトコル[®]に従って調製し、Illumina HiSeq 4000 で 2x100bp リードを用いてシーケンスを行いました。すべてのサンプルについて、データ量を 5 Gb に標準化して解析を行いました。

マニュアルと自動化のワークフローで一貫したパフォーマンスを実現

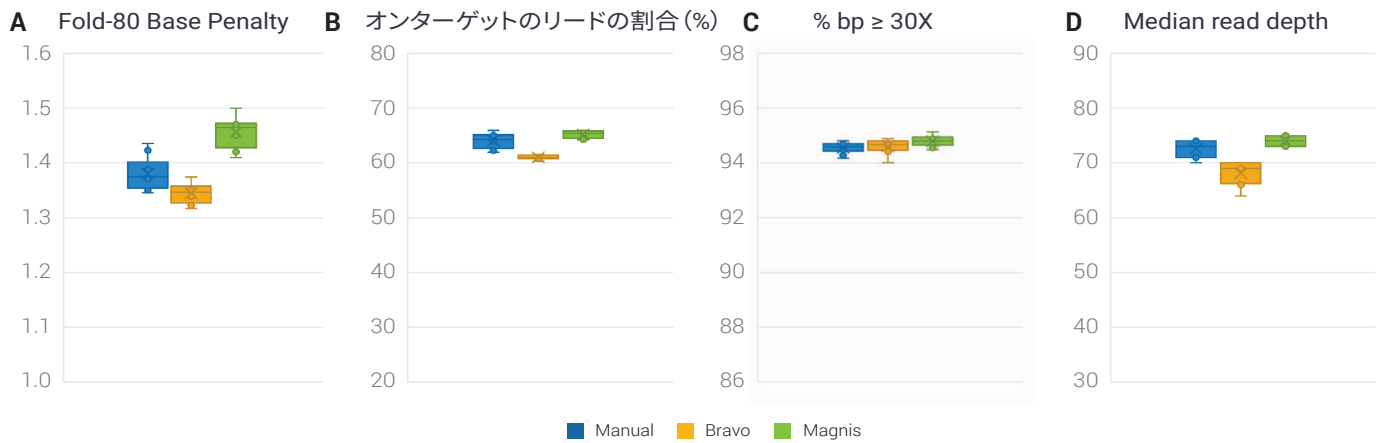


図 7. SureSelect Human All Exon V8 パネルはマニュアルと自動化の両方のライブラリ調製で、一貫したパフォーマンスを実現
 Bravo NGS 自動化システムと Magnis NGS Prep システムのライブラリ調製のパフォーマンスは、再現性が高く、実施経験の豊富な作業員による手作業でのパフォーマンスにも相当することが示されました。すべてのワークフローにおいて、Coriell Institute (Camden, New Jersey) の HapMap ゲノム DNA 200 ng をコバリスで断片化し、インプットとして用いました。マニュアル（作業員 4 名、合計 10 サンプル）と Bravo（8 サンプル）のワークフローで、SureSelect XT Low Input Reagent キットを用いてライブラリ調製を行い、1 キャプチャあたり 1 サンプル（1-plex）で 90 分のハイブリダイゼーションによりエンリッチメントを行いました。Magnis（4回のラン、合計 10 サンプル）のワークフローで、Agilent Magnis SureSelect XT HS Human All Exon V8 を用いてライブラリの調製を行いました。Rev B キットでは、試薬は容器に分注されています。サンプルは、Illumina HiSeq 2500（マニュアルおよび Bravo）または HiSeq 4000（Magnis）で 2x100bp リードのシーケンスを行い、リード数を 50 M リード（もしくはデータ量 5 Gb）に標準化して解析を行いました。

自動化されたライブラリ調製とバリエーション評価による生産性の向上

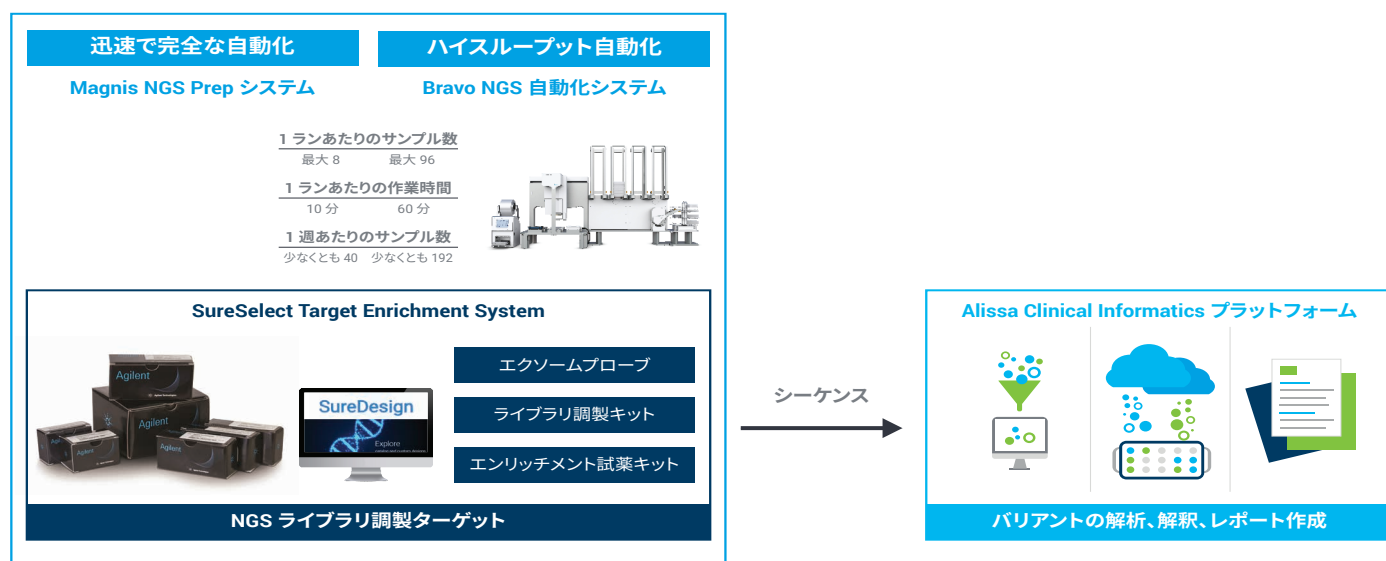


図 8. アジレントの全エクソームシーケンスソリューション

SureSelect Human All Exon V8 パネルは、ウェブベースのアプリケーションである Agilent SureDesign を使用して、エクソームシーケンスに必要なターゲット遺伝子パネルを簡単に追加できます。V8 エクソームパネルは Bravo や Magnis による自動化や Alissa Clinical Informatics プラットフォームとの連携が可能で、大幅な効率化を図れます。ハイスループットアプリケーション専用の Bravo NGS 自動化システム上で簡単にライブラリ調製を自動化でき、最大 96 サンプルを処理するのに必要な作業時間はわずか 60 分です。Agilent Magnis SureSelect Human All Exon V8 キットの試薬は Magnis NGS Prep システム上で使用するためにあらかじめ分注されています。必要な手作業時間は、装置のランを設定し、試薬・消耗品を機器のデッキにセットするわずか 10 分だけです。その後は、装置で作業する必要はなく、Magnis システムは 9 時間以内に 8 つのエクソームライブラリを調製します。Alissa Clinical Informatics プラットフォームにより、バリエーションのフィルタリングやアノテーション、精査や分類などの臨床ワークフローの自動化が可能で、これにより遺伝学ラボや分子病理学ラボではゲノムのバリエーションの効率的な選別、精査、レポート作成が可能になります。

* SureSelect Human All Exon V8 は CCDS release 22、GENCODE release 31、RefSeq release 95 の 2019 年 8 月時点の情報に基づいてタンパク質をコードする領域を 100%カバーするコンテンツを搭載しています。

** 各社の製品について、Coriell Institute (Camden, New Jersey) の NA12878 ゲノム DNA を使用し、各社のプロトコルを改変せずにサンプル調製を行いました。スタート DNA 量については、SureSelect Human All Exon V8 は 200 ng、T 社製品については 50 ng (T 社のプロトコルで指定された量) としました。SureSelect Human All Exon V8 については、コバリスで断片化した DNA を用いて SureSelect XT Low Input 試薬キットで 1 キャプチャあたり 1 サンプル (1-plex) または 1 キャプチャあたり 8 サンプル (8-plex) で、90 分ハイブリダイゼーションによりエンリッチメントを行いました。T 社製品については、酵素で断片化した DNA を用いて、1 キャプチャあたり 8 サンプル (8-plex) でオーバーナイトのハイブリダイゼーションによりエンリッチメントを行いました。すべてのサンプルは Illumina HiSeq 4000 で 2x100bp のシーケンスを行い、リード数を 50 M リード (もしくはデータ量 5 Gb) に標準化し、各社が提供する BED ファイルを用いて解析を行いました。Fold-80 base penalty は Picard HsMetrics (Broad Institute) を用いて算出しました。オンターゲットリードの割合は、ターゲット領域に対して 50%以上オーバーラップしているリードの数をユニークにマッピングされたリードの数で割ることにより計算しました。

参考文献

1. Kingsmore, S. Comprehensive Carrier Screening and Molecular Diagnostic Testing for Recessive Childhood Diseases. PLoS Curr.2012, 4, e4f9877ab8ffa9.

製品情報

製品概要	16 Rxns	96 Rxns	96 Rxns Auto
SureSelect XT HS Human All Exon V8	5191-6873	5191-6874	5191-6875
Sure Select XT Human All Exon V8	5191-6879	5191-6891	5191-6892
製品概要	2 Hybs	12 Hybs	12 Hybs Auto
SureSelect XT HS PreCap Human All Exon V8	5191-6876	5191-6877	5191-6878
製品概要	32 Rxns	96 Rxns	
Magnis SSEL XT HS Human All Exon V8.Rev B	G9772C	G9772D	
製品概要	Alissa Interpret		
	販売担当者にお問い合わせ		

[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試験研究用です。

診断目的にご利用いただくことはできません。

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

G220432

© Agilent Technologies, Inc. 2021

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, July 15, 2021

5994-3154JAJP