

SureSelect CRE V4 临床研究全外显子组

基于基因组洞见并由专家精选临床内容

主要优势

- 靶标区域 41.1 Mb，全面覆盖最新人类蛋白质编码和经优选的非编码区域
- 高度均一的序列捕获性能，实现高效测序
- 适配 Bravo 自动化移液处理平台和 Magnis NGS 文库制备系统，以提高效率
- 简化与基于云的 Alissa 临床信息学平台的集成，更快获得结果

前言

Agilent SureSelect 临床研究外显子组 V4 (CRE V4) 旨在全面覆盖人类蛋白质编码区域，以及由世界知名临床分子遗传学家 Madhuri Hegde 博士（美国医学遗传学与基因组学学院专家委员，曾就职于埃默里大学）精选的临床相关内容。十年来，随着对基因组的了解更加深入，SureSelect 临床研究外显子组也实现了系统化改进。SureSelect CRE V4 利用通过全基因组测序 (WGS) 获得的宝贵见解和发现，创建了能够缩小全外显子组测序 (WES) 和 WGS 间差距的外显子组，该外显子组具有独特的功能设计，包括可以覆盖精选的深内含子位点和小型基因组。CRE V4 在全外显子组覆盖的基础上，提高了对 6500 多种疾病相关基因的覆盖率。此外，CRE V4 还很好地覆盖来自 ClinVar、HGMD 和 ACMG 的非编码区致病位点、祖源单核苷酸变异 (SNPs)、药物基因组 SNPs，并能检测常见致病性 CNVs，以及其他由专家精选的疾病相关内容。

SureSelect CRE V4 凭借 48.5 Mb 的高效设计，可覆盖人类基因组 41.1 Mb 的靶标区域。CRE V4 可实现出色的序列捕获性能和高效的测序，确保更强大的致病变异检测能力，同时尽可能不增加测序数据量避免了 WGS 测序费用高、基础设施负担重和信息学复杂性的问题。

SureSelect CRE V4 与简化的 Agilent SureSelect XT HS2 文库制备和靶向序列捕获系统兼容。CRE V4 序列捕获工作流程天然支持自动化，可通过 Agilent Bravo 自动化液体处理平台实现高通量样品前处理，也可通过 Agilent Magnis NGS 文库制备系统实现完全自动化的无人值守运行。使用 Agilent Alissa Reporter 和 Alissa Interpret 软件可轻松分析测序数据，实现高效的变异分析、注释和报告，从而为临床遗传学实验室提供端到端的外显子组测序解决方案*。

表 1. 出色设计造就卓越的实用性。 SureSelect 临床研究外显子组 V4 (CRE V4) 包含由世界知名临床遗传学家 Madhuri Hegde 博士及其专业的临床遗传学家团队精选的临床内容。与传统的外显子组 panel 不同, CRE V4 的设计基于临床证据, 以大幅提高临床研究中的外显子组测序能力。它可提高对大约 6500 种疾病相关基因的覆盖率, 并全面覆盖来自 ClinVar、HGMD 和 ACMG 数据库的非编码靶标、祖源 SNPs、药物基因组 SNPs 和其他由专家精选的疾病相关内容

	SureSelect 临床研究外显子组 V4	供应商 T Exome 2.0
靶标大小	41.1 Mb	36.5 Mb
设计大小	48.5 Mb*	43.2 Mb
编码内容		
CCDS	版本 22	是
GENCODE	V31	是
RefSeq	版本 95 - NM	是
非编码内容		
ClinVar	所有 P 和 LP 变异 (2022), 包括 > 100 bp 的变异	< ~100 bp 的 P 和 LP 变异
HGMD	AF < 0.5% 的 DM (2021)	-
ACMG 73 个基因	所有 P 和 LP 变异 (2022), 包括 > 100 bp 的变异	-
其他内容		
增强覆盖范围	> 6500 个疾病相关基因和性染色体	-
TERT 基因	启动子区域	启动子区域
线粒体基因组	所有 37 个线粒体基因 (16 kb)	-
祖源 SNPs	1500 多个与祖源信息相关的 SNPs	-
PGx SNPs	100 多个有记录的变异, 覆盖了药物基因组基因, 如 CYP2C19、CYP2D6 和 TPMT	-
结构变异	20 多个变异事件, 包括 Boland 倒位、HBA/HBB 缺失、GALC 30 kb、EPCAM/MSH2 和 GREM1/SCG5 缺失	-
小型基因组	41 个完整基因, 包括 DMD 基因	-
动态突变	包括用于 43 个位点的探针 (排除方法)	-
样本示踪 SNPs	所有 24 个优化的 SNPs 均来自 Pengelly 等	Pengelly 等 SNPs

*合并探针大小为 48.5 Mb, 包括同源性 ≥ 95% 的序列是 51.0 Mb

A

APC	ATP7B	BMPR1A	BRCA1	BRCA2
COL3A1	DMD	DSC2	DSP	FBN1
KCNH2	KCNQ1	LDLR	LMNA	MEN1
MLH1	MSH2	MSH6	MUTYH	MYBPC3
NF2	OTC	PKP2	PMS2	PTEN
RB1	RYR1	RYR2	SCN5A	SDHB
SDHC	SDHD	SMAD3	SMAD4	STK11
TGFBR1	TP53	TSC1	TSC2	VHL
WT1				

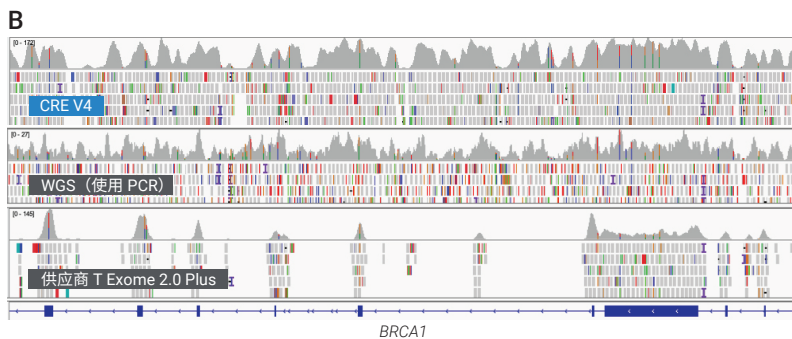


图 1. 缩小外显子组测序和基因组测序之间的差距。 A) SureSelect 临床研究外显子组 V4 (CRE V4) 将覆盖范围扩展至外显子区域之外, 包括 41 个小型基因组, 以便能够发现与罕见遗传疾病 (如杜氏肌营养不良症和马凡氏综合症) 相关的新型复杂基因组变异。CRE V4 几乎覆盖了 40 个常见的突变基因, 并且完全覆盖了 DMD 基因。B) Reads 完全覆盖小型基因组, 与全基因组测序的覆盖范围相似

表 2. 全面设计覆盖临床相关数据库内容。SureSelect 临床研究外显子组 V4 全面覆盖了来自 CCDS、GENCODE 和 RefSeq 的蛋白质编码内容，并且几乎覆盖了来自 ACMG、ClinVar 和 HGMD 数据库的疾病相关非编码内容

	SureSelect CRE V4	供应商 ID Exome V2	供应商 R Exome	供应商 T Exome 2.0	供应商 I Exome 2.0 Plus
靶标大小	41.1 Mb	34.1 Mb	35.8 Mb	36.5 Mb	37.5 Mb
设计大小	48.5 Mb	42.3 Mb	43.0 Mb	42.1 Mb	
编码内容	数据库覆盖率% (理论值)				
CCDS 版本 22	100%	99.8%	> 99.9%	97.6%	> 99.9%
GENCODE V31	100%	97.2%	99.6%	97.2%	99.6%
RefSeq 版本 95	100%	99.7%	> 99.9%	97.3%	99.7%
非编码内容					
ACMG 73 基因中的变异	> 99.9%	43.2%	70.7%	78.0%	78.0%
ClinVar P/LP 变异	100%	12.8%	64.5%	98.9%	98.9%
HGMD DM 变异*	100%	10.3%	37.8%	53.9%	53.9%

* HGMD 非编码 DM 变异，等位基因频率 < 0.5%

强大的外显子组捕获性能实现高效测序

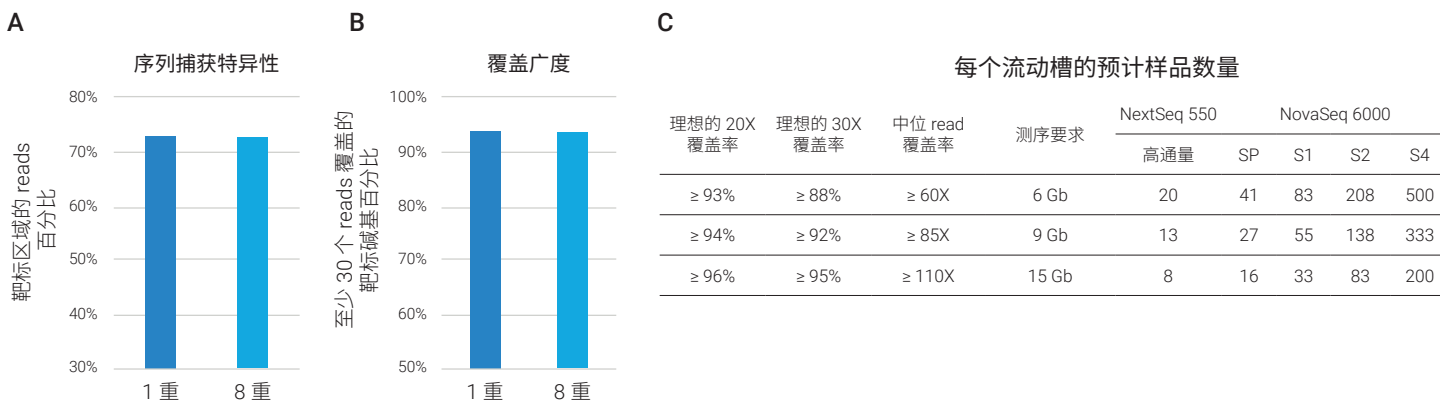


图 2. 出色的外显子组捕获性能成就高性价比的测序。A) SureSelect 临床研究外显子组 V4 (CRE V4) 提供高在靶率，表明能够高特异性地捕获精选的内容。B) CRE V4 还提供出色的测序覆盖率，通过使用 9 Gb 测序数据计算具有至少 30 个 reads 的靶标碱基百分比来衡量。C) CRE V4 具有出色的序列捕获性能和数据质量，结合其高效的设计，可实现高度经济的外显子组测序，能够在单次测序运行中同时对合适数量的样品进行测序。使用 SureSelect XT HS2 DNA 靶向序列捕获系统，以 200 ng 来自 HapMap 样品的基因组 DNA 作为起始材料，通过 1 重和 8 重捕获生成外显子组富集文库。所得文库在 Illumina HiSeq 4000 或 NovaSeq 6000 上以 2 × 150 bp 的读长进行测序

对疾病相关靶标实现更优的覆盖

≥ 20X 测序深度的临床靶标百分比

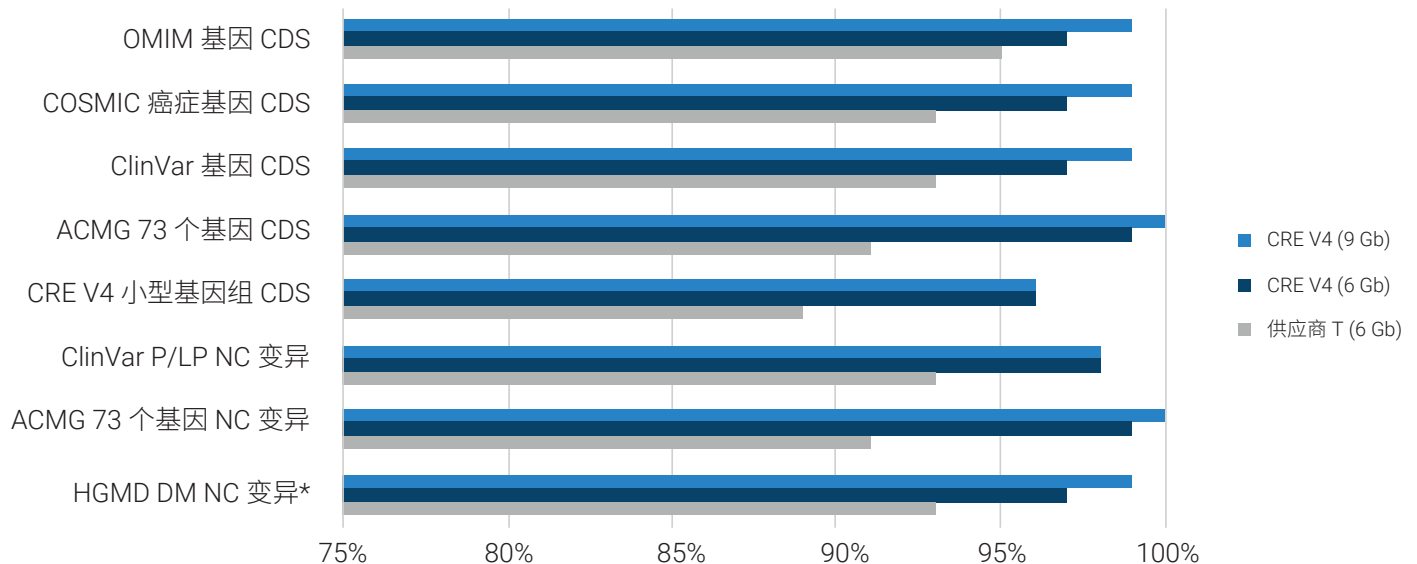


图 3. 更深度地覆盖临床相关内容。对于来自 OMIM、COSMIC、ClinVar、ACMG 和 HGMD 的疾病相关靶标，SureSelect 临床研究外显子组 V4 (CRE V4) 在 ≥ 20X 测序深度下实现了更高的平均覆盖率，使用 CRE V4 和 SureSelect XT HS2 DNA 靶向序列捕获系统，或使用供应商 T 的 Exome 2.0 Plus 和相关文库制备和过夜杂交试剂通过 1 重捕获生成外显子组富集文库。所得文库在 Illumina HiSeq 4000 或 NovaSeq 6000 上以 2 × 150 bp 的读长进行测序。样本取 9 Gb 和 6 Gb 测序数据进行分析。6 Gb 测序数据相当于 CRE V4 靶标大小的 145X 原始覆盖率，对于供应商 T，相当于 160X 原始覆盖率。CDS：编码序列；NC：非编码

*HGMD 非编码 DM 变异，等位基因频率 < 0.5%

从具有挑战性的临床样品中获得可靠结果

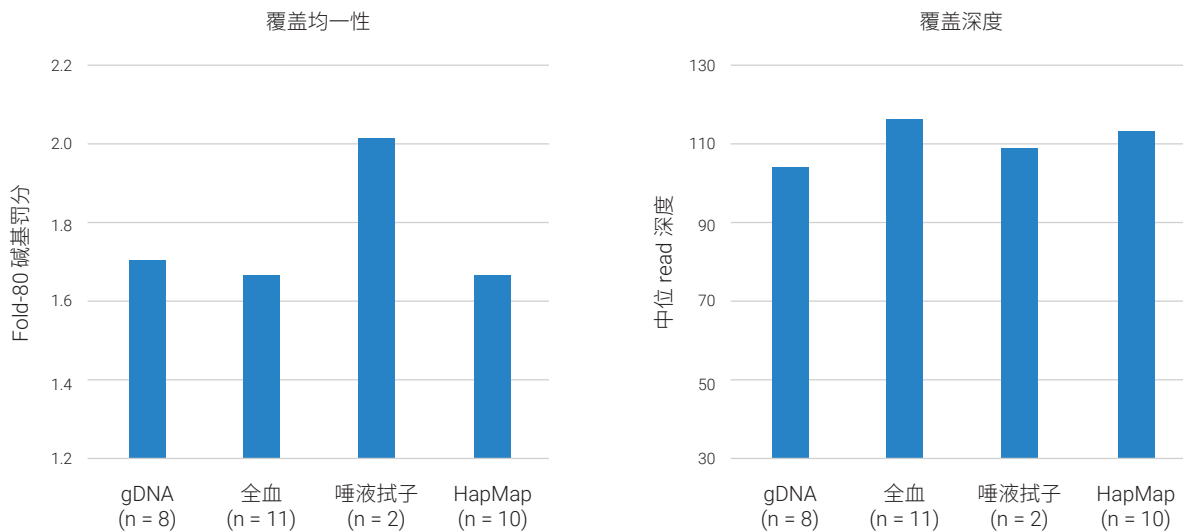


图 4. 来自临床样品的高质量外显子组序列捕获数据。SureSelect 临床研究外显子组 V4 (CRE V4) 可为各种临床样品提供出色且一致的序列捕获性能。CRE V4 富集文库由 HapMap 样品和一系列临床样品生成，包括全血、唾液拭子以及来自各种样品的基因组 DNA (gDNA)，这些样品均已通过 WGS 和 WES 进行了表征。所得文库在 Illumina NovaSeq 6000 上以 2 × 150 bp 的读长进行测序。所有样本取 15 Gb 测序数据进行分析。与其他样品相比，唾液拭子和 gDNA 样品表现出更高的变异性，导致 fold-80 碱基罚分明显更高，中位 read 深度更低

表 3. 用于 SNV 和插入缺失检测的强大分析性能。 SureSelect 临床研究外显子组 V4 (CRE V4) 具有出色的灵敏度、特异性和阳性预测值 (PPV)，适用于单核苷酸变异 (SNV) 和插入缺失 (indel) 检测。使用 HapMap 样品生成 CRE V4 富集文库，并在 Illumina NovaSeq 6000 上以 2 × 150 bp 读长进行测序。所有样本取 15 Gb 测序数据进行分析

	NA12878	NA24143	NA24149	NA24385	NA24631	NA24695
SNV						
灵敏度	97.6%	97.5%	97.7%	97.6%	97.2%	97.3%
特异性	100%	100%	100%	100%	100%	100%
PPV	98.8%	99.0%	99.0%	98.8%	99.0%	98.9%
插入和缺失						
灵敏度	90.4%	88.7%	89.6%	87.7%	93.1%	90.0%
特异性	100%	100%	100%	100%	100%	100%
PPV	95.6%	96.2%	95.7%	96.2%	99.1%	96.9%

表 4. 临床样品中变异的一致检测。 SureSelect 临床研究外显子组 V4 (CRE V4) 可以检测以前通过 WGS 和 WES 检测的 SNVs 和 CNVs。利用临床样品（全血和从各种样品中提取的 gDNA）生成 CRE V4 富集文库，并在 Illumina NovaSeq 6000 上以 2 × 150 bp 读长进行测序。所有样品取 15 Gb 测序数据进行分析，并使用 Alissa Reporter 进行变异分析。临床样品中先前已确认的 SNVs（未显示）和 CNVs 均被检测到

样品类型	CNV 区域	CNV 基因	CNV 大小	CNV 类型
gDNA	16q22.1	188 个基因	20.28 Mb	增加
	16p13.3	51 个基因	1.05 Mb	缺失
gDNA	14q13.3	GALC	22.1 kb	缺失
gDNA	2p21	MSH2、KCNK12	124.2 kb	缺失
全血	Xp21.1	DMD	102.9 kb	缺失
gDNA	16q24.3	DPEP1、CHMP1A、SPATA33、CDK10、SPATA2L、VPS9D1、VPS9D1-AS1、ZNF276、FANCA	157.3 kb	缺失
全血	8q21.11-q21.12	GDAP1	218.2 kb	增加

由自动化设备和临床信息学软件提供支持的“样品到报告”工作流程，进一步提高分析效率



图 5. 来自单一供应商的“样品到报告”工作流程。 SureSelect 临床研究外显子组 V4 (CRE V4) 可与 Bravo 和 Magnis 自动化设备以及 Alissa 临床信息学平台配合使用，提升运行效率。CRE V4 在 Bravo 自动化液体处理平台上可轻松实现自动化，适用于高通量应用，仅需 60 分钟的手动操作时间即可处理多达 96 个样品。Magnis SureSelectXT HS2 CRE V4 试剂盒包含用于 Magnis NGS 文库制备系统的消耗品和预先分装的试剂。只需 10 分钟的手动操作时间即可完成仪器设置。然后，Magnis 系统可在不到 9 小时内提供 8 个外显子组富集文库，且无需操作人员的进一步干预。测序可以在 Illumina 测序仪上进行。或者，可以使用各个平台的特定文库转换试剂盒，在 MGI DNBSEQ 测序仪、Element Biosciences AVITI 台式测序仪或 Pacific Biosciences Onso 测序系统上进行测序。Alissa Reporter 和 Alissa Interpret 可提供快速变异分析和自动化变异分类、审查和分级，使分子遗传学研究人员能够高效地报告识别出的基因组变异

订购信息

产品说明*	16 次反应	96 次反应	96 次反应，自动
SureSelect XT HS 临床研究外显子组 V4	5280-0020	5280-0021	5280-0022
产品说明*	2 次杂交	12 次杂交	12 次杂交，自动
SureSelect XT PreCap 临床研究外显子组 V4	5280-0029	5280-0030	5280-0031
产品说明	32 次反应	96 次反应	
Magnis SureSelect XT HS2 DNA CRE V4 ILM	G9775A	G9775B	
产品说明			
Magnis NGS 文库制备系统	联系销售		
Bravo NGS 工作站 (选项 A)	联系销售		
Bravo NGS 工作站 (选项 B)	联系销售		
Alissa Reporter	联系销售		
Alissa Interpret	联系销售		

* SureSelect XT HS 探针组可进行快速杂交，SureSelect XT 探针组可进行过夜杂交

www.agilent.com/genomics

仅供科研使用。不用于临床诊断用途。
Alissa Interpret 是美国的 I 类豁免医疗器械、欧洲的 CE IVD 以及加拿大和澳大利亚的 I 类 IVD 器械。
PR7001-1079

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2023
2023 年 6 月 5 日, 中国出版
5994-6205ZHCN

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

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

 **Agilent**
Trusted Answers