

TruSight® Tumor 15 パネル

固形癌 FFPE サンプルでの一般的な体細胞変異の研究に適し、
科学的根拠に基づく遺伝子コンテンツおよび包括的なワークフローソリューション

四

詳細なQC手順と使いや

簡潔で包括的なワークフロー **生産性を向上**

わずか 3.5 時

結果取得までおよそ 36 時間で完了する迅速なターンアラウンドタイム

NCCN や ESMO の関連ガイドライン

リーダー、薬剤研究のデータに従つて細胞変異を選定 わずかな DNA スタート量で高精度に変異を検出

20ng のスタート量の FFPE サンプル DNA で、

アリル頻度の体細胞変異を梢椎に検出

今日の癌研

力であります。次回 TruSight Tumor (TruSight Tumor) 技術によりて数多くの飛躍的な成果が得られています¹。世界中の研究室では、単一遺伝子の反復アッセイに比べ、より少ないコストとより短いターンアラウンドタイムを実現する NGS を利用して、癌に関連する複数の変異が並列的に検討されています。TruSight Tumor パネルは、NGS を利用して、一般に固形癌でよくみられる 15 の変異遺伝子の評価を行います。パネルの効率化されたワークフロー・ソリューションでは、DNA サンプルから結果を得るまでおよそ 36 時間で完了し、腫瘍プロファイリングを加速させます。TruSight Tumor パネルにより、NGS による高精度で経済的な解析を研究室で行うことが可能になります。

NOC左箭略小，左勾托的扣口

Tumor パネルは、研究室での実務へスムーズに導入することができます。このパネルは一回のアッセイで 15 の重要な遺伝子を評価して、単一遺伝子の解析に比べ、さらに効率的な腫瘍プロファイリングの手法を提供しています。サンプルをマルチプレックス化して 1 ランあたり最大 8 サンプルまでの解析を実施することができます。

TruSight Tumor のワークフロー

なく、組織サンプルの必要量、推奨のDNA抽出や定量方法、さらに、工程中の品質評価手順が含まれます。この包括的なワークフローは研究室のワークフローへ容易に統合することができ、DNA抽出からデータ作成まではおよそ36時間で完了します(図1)。わずか3.5時間のハンズオンタイムで、ライブラリー調製は7時間で完了します。DNAライブラリーを試薬カートリッジに直接ロードするため、その他の処理の必要なく、MiSeq®システムまたはMiSeqDx®システムでMiSeq v3ケミストリーに基づいたシーケンスが行われます(研究用モードでランを実行)。得られたデータは、装置に搭載のMiSeq Reporterソフトウェアを使って解析を行います。

MiSeq Reporter ソフトウェアから得られた結果を表示する。

ソフトウェアでは、変異のフィルタリング、分類、アノテーションの追加オプションを効率的に実行できます。研究者は、パネルに付属の簡単な解析ツールを使って、最小限のバイオインフォマティクスの知識と要員でシーケンスデータを検証し理解することが可能になります。



本出版物は切り立った技術によるものである。

癌関連遺伝子のコンテツ

TruSight Tumor パネルのコンテンツは、15 の癌関連遺伝子領域に焦点を当てています（表 1）。遺伝子コンテンツは、米国がんネットワークの診療ガイドライン（National Comprehensive Cancer Network-NCCN）²、および、European Society for Medical Oncology（ESMO）に引用されるコンテンツを含むよう厳選されています³。TruSight Tumor パネルは、独立コンソーシアムが公表する論文や後期葉剤臨床試験のデータも勘案し、デザインされています^{4,5}。これらの遺伝子や遺伝子領域には、固形癌への関与が明らかにされている一塩基変異（SNV）および挿入と欠失（indels）が含まれます。癌研究における権威の専門知識を利用することにより、TruSight Tumor パネルは、腫瘍形成において大きな役割を果たす可能性が最も高い関連遺伝子にリソースを集中させた実験を可能にします。

AKT1 *GNA11*

<i>BRAF</i>	<i>GNAQ</i>	<i>PDGFRA</i>
<i>EGFR</i>	<i>KIT</i>	<i>PIK3CA</i>
<i>ERBB2</i>	<i>KRAS</i>	<i>RET</i>
<i>FOXL2</i>	<i>MET</i>	<i>TP53</i>

FFPE 組織のために最適化

この分析法においては、PCRによって増幅されたDNAに用いたTruSight Tumorパネルのライブラリー調製およびシーケンス法は、このような課題に対処するようデザインされています。サンプルの定量に関するガイドラインを提供して、FFPE組織からの安定した高品質なシーケンスデータの取得を保証しています。幅広い腫瘍タイプにわたりサンプル解析の成功率を最大限に高めることにより、このパネルでは、限りあるサンプルやリソースも抑えることが可能です。

高い精度と信頼性のバリエント検出

NGS でのアーナンスにより、高精度に腫瘍細胞中の体細胞変異を明らかにすることができます。イルミナの 1 塩基合成反応 (SBS : sequencing by synthesis) ケミストリーは最も広く採用されている NGS 技術であり、世界中のシーケンデータの 90% 以上がこの技術を利用して産出されています*。高品質のシーケンスを誇る MiSeq システムと組み合わせてご使用になれば 6,7、TruSight Tumor パネルがターゲット領域を均一にカバーしながら、500 x 以上の平均カバレッジで 5% のアリル頻度の体細胞変異を同定します (表 2)。この高精度により、FFPE 腫瘍サンプルから低頻度の変異を確実に同定するために必要な精確性が得られます (表 3、表 4)。

ゴプールを使用するタイリング法に従ったアッセイによりライブラリー調製を行います（図2）。この方法により、より広いDNA領域がカバーでき、カバレッジの均一性が向上して、プライマーダイマーやFFPEに起因するアーチファクトが低減します。これにより、高精度な結果を得ることが可能になります。個別にqPCR反応を必要とする代わりに、ライブラリー調製中に推奨品質への適合性を評価して、サンプル解析の成功をサポートしています（図3）。この推奨品質には、最終ライブラリー濃度やライブラリーサイズの期待値が含まれます。

八〇八

パネルサイズ	44kb
コンテンツ	250 アンプリコン
アンプリコンサイズ	平均～150–175bp
DNA スタート量	トータル 20ng (10ng、2 反応)
ライブラリー調製時間	7 時間 (ハンズオンタイム 3.5 時間)
シーケンスラン時間	MiSeq システムで 27 時間
シーケンスラン	151bp × 2
サンプルスループット	MiSeq v3 ケミストリーにより 1 ラン当たり 8 サンプル
変異の頻度	5%
アンプリコンカバレッジ	93.5% の塩基が 500x 以上でカバー

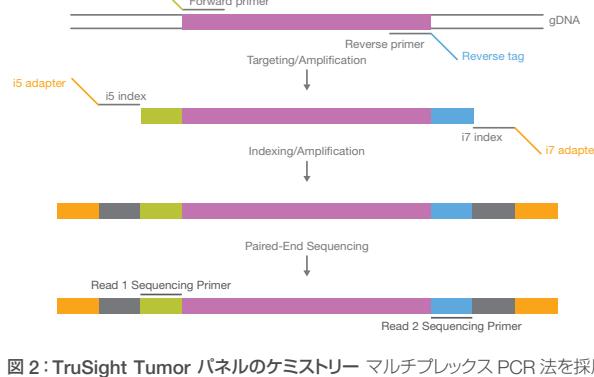
BRAF V600E

<i>EGFR</i>	G719S	24.5%	24.0%	24,617x
<i>KRAS</i>	G13D	15.0%	18.3%	4,191x
<i>KRAS</i>	G12D	6.0%	11.5%	4,194x
<i>NRAS</i>	Q61K	12.5%	16.0%	10,037x
<i>PIK3CA</i>	E545K	9.0%	11.5%	22,944x
<i>PIK3CA</i>	H1047R	17.5%	19.0%	14,867x
<i>cKIT</i>	D816V	10.0%	14.8%	4,040x

本製品は研究目的での使用に限定されます

表4: FFPE 腫瘍サンプルでの TruSight Tumor ハネルのハブオーマンス

遺伝子	変異	リファレンス配列	置換配列	深度	頻度
BRAF	V600E	A	T	38,111x	66.3%
AKT1	E17K	C	T	33,141x	39.0%
KRAS	G13D	C	T	7,403x	34.5%
NRAS	Q16R	T	C	13,682x	42.7%
PIK3CA	E545K	G	A	76,822x	49.4%



このTruSight Tumorアッセイと同程度である。

卷首语

TruSight Tumor 15 24 サンプル分のライブラリー調製試薬、 MiSeq シーケンス試薬（3 ラン）を含む	OP-101-1001
TruSight Tumor 15 24 サンプル分のライブラリー調製試薬を含む	OP-101-1002

腫瘍学でのイルミ

www.illuminaakk.co.jp/applications/cancer.htmlをご覧ください。

1. Wagle N, B actionable

- massively parallel sequencing. *Cancer Discov.* 2012;2:82-93.

 2. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#site) Accessed 15 June 2015.
 3. Van Cutsem E, Cervantes A, Nordlinger B, Arnold D; ESMO Guidelines Working Group. Metastatic colorectal cancer:ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2014;25 Suppl 3:iii1-9.
 4. Rousseau B, Jacquot C, Le Palabre J, et al. TP53 transcription factor for the NEDD9/HEF1/Cas-L gene: potential targets in non-small cell lung cancer treatment. *Sci Rep.* 2015;5:10356.
 5. Haley L, Tseng LH, Zheng G, et al. Performance characteristics of next-generation sequencing in clinical mutation detection of colorectal cancers [published online July 31 2015]. *Mod Pathol.* 2015. doi:10.1038/modpathol.2015.86.
 6. Salipante SJ, Kawashima T, Rosenthal C, et al. Performance and comparison of Illumina and Ion Torrent next-generation sequencing platforms for 16S rRNA-based bacterial community profiling. *Appl Environ Microbiol.* 2014;80:7583-7591.
 7. Van den Hoecke S, Verhelst J, Vuylsteke M, Saelens X. Analysis of the genetic diversity of *Uenzia A* viruses using next-generation DNA sequencing. *BMC Genomics.* 2015;16:79.

細胞變異

提供します。主な機能は、データの収集、分析、結果の表示、出力などです。また、AIによる自動診断機能も搭載されています。このシステムは、医療機関や研究機関で広く利用されています。

イルミナ株式会社

〒108-0014 東京都港区芝5-36-7 三田ベルジュビル22階

Tel (03) 4578-2800 Fax (03) 4578-2810

www.illuminakk.co.jp

 www.facebook.com/illuminakk

代理店

本製品の使用目的は研究に限定されます。販売条件：www.illuminakk.co.jp/tc

© 2015 Illumina, Inc. All rights reserved.

Illumina, IlluminaDx, BaseSpace, BeadArray, BeadXpress, cBot, CSPro, DASL, Design Studio, GAlx, Genetic Energy, Genome Analyzer, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, Infinium, iSelect, MiSeq, Nextera, NextSeq, NuPCR, SeqMonitor, Solexa, TruSeq, TruSight, VeraCode, the pumpkin orange color, the Genetic Energy streaming bases design は、Illumina, Inc. の商標または登録商標です。

その他の会社名や商品名は、各社の商標または登録商標です。予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。

Pub. No. 1170-2015-J003 06OCT2015

illumina®