

AmpliSeq™ for Illumina BRCA Panel

BRCA1およびBRCA2の体細胞変異と生殖細胞系列変異を迅速かつ高精度に検出

特長

- 関連遺伝子のコンテンツ
BRCA1およびBRCA2の全エクソン領域と隣接イントロン配列をターゲット
- 迅速かつ効率的なワークフロー
わずか1 ngの高品質DNAまたはFFPE組織からの10 ngのDNAから1日でシーケンス可能なライブラリーを調製
- 高精度なデータ
ローカル解析またはクラウド解析によってアリル頻度5%までの生殖細胞系列変異や体細胞変異を検出

はじめに

AmpliSeq for Illumina BRCA Panelは、BRCA1とBRCA2の全エクソン領域および隣接イントロン配列の体細胞変異と生殖細胞系列変異を検出するためにデザインされたターゲットリシーケンスアッセイです（表1）。BRCA1およびBRCA2はがん抑制遺伝子であり、特異的な変異を生じると、乳がんおよび卵巣がんのリスクが増加することが示されています。¹ 腫瘍内のBRCA遺伝子の状態を理解することは、治療可能な方法を研究する際の参考になる可能性があります。²

BRCA1およびBRCA2内のゲノム変異について迅速で精度の高い解析に役立てるために、イルミナはAmpliSeq for Illumina BRCA Panelを提供しています。このBRCAパネルは効率化されたワークフローの一部であり、このワークフローにはPCRベースのライブラリー調製、イルミナの1塩基合成反応（SBS）ケミストリーおよび次世代シーケンス（NGS）テクノロジー、そして自動化が含まれます。この2プールのパネルは、プール当たり必要な高品質DNAはわずか1 ngであり、ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織などの低品質で少量のサンプルにも用いることができます。

シンプルかつ効率的なワークフロー

AmpliSeq for Illumina BRCA Panelは、効率的なコンテンツ、簡単なライブラリー調製、タッチパネル操作のシーケンサーシステム、および簡便なデータ解析を備えたソリューションの一部です。

ライブラリー調製は1.5時間以下のハンズオン時間と、わずか6時間で完了する分かりやすいPCRベースのプロトコールに従って行います。出来上がったライブラリーをノーマライズし、プールしてから、シーケンス用フローセルにロードします。調製したライブラリーは、すべてのイルミナシーケンサーで、実証済みのSBSケミストリーによってシーケンスします（表2）。

得られたデータはLocal Run Managerでローカル解析するか、クラウド環境であるBaseSpace™ Sequence Hubで解析することができます。

表 1: AmpliSeq for Illumina BRCA Panelの概要

パラメーター	仕様
遺伝子数	2
ターゲット	BRCA1およびBRCA2 がん抑制遺伝子の全エクソン領域と隣接イントロン配列
累積ターゲットサイズ	22 kb
バリエーションタイプ	SNV、Indel ^a
アンプリコンサイズ	平均98 bp
プライマーペア（アンプリコン）数	265
必要なDNAインプット量	1~100 ng（10 ngを推奨）
パネル当たりのプール数	2
対応サンプル	FFPE、血液
体細胞：推奨スループットにより最小50×でカバーされるターゲット率	> 95%
生殖細胞：推奨スループットにより最小500×でカバーされるターゲット率	> 95%
カバレッジ均一性（平均カバレッジの0.2×を上回るターゲットの割合）	> 95%
オンターゲットアライメントリード率	> 80%
合計アッセイ時間	5時間 ^b
ハンズオン時間	< 1.5時間
DNAからデータ取得にかかる時間	2.5日

a. SNV：一塩基多型、Indel：挿入欠失多型
時間はライブラリー調製のみを表しており、ライブラリー定量、ノーマライゼーション、プーリングは含みません。

2017年、社内資料

アライメントおよびバリエーションコールを行うDNA Amplicon 解析アプリBaseSpace Sequence HubからBaseSpace Variant Interpreterにアクセスでき、これによりバリエーションコールデータを注釈付きの結果に変えることができます。



イルミナのインフォマティクスの詳細はこちら
jp.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/informatics.html

高精度なデータ

アッセイの性能を示すために、AmpliSeq for Illumina BRCA Panelを用いてHorizon Discovery（HD）サンプルと乳房組織（腫瘍/正常のペア）サンプルを調製し、MiSeq™システムでシーケンスを行いました。結果より、サンプルの品質が異なっていても、高いカバレッジ均一性とアライメントリードのオンターゲット率が示されました（図1）。また、品質の異なる2つのHDサンプルでバリエーションコールの精度を評価しました。データより、予測SNVと検出SNV間での高い一致が示されました（表3）。

表 2: AmpliSeq for Illumina BRCA Panelに推奨されるイルミナのシーケンサー

装置	ラン当たりのサンプル数	ラン時間
体細胞変異研究		
iSeq™ 100システム	12	17時間
MiniSeq™システム (中出力)	24	17時間
MiniSeqシステム (高出力)	80	24時間
MiSeqシステム (v2ケミストリー Nano)	3	17時間
MiSeqシステム (v2ケミストリー Micro)	12	19時間
MiSeqシステム (v2ケミストリー)	48	24時間
MiSeqシステム (v3ケミストリー)	80	32時間
生殖細胞系列変異研究		
iSeq™ 100システム	96	17時間
MiSeqシステム (v2ケミストリー Nano)	32	17時間
MiSeqシステム (v2ケミストリー Micro)	96	19時間
最大96サンプルをマルチプレックス可能		

製品情報

AmpliSeq for Illumina製品のオンライン注文はこちら
jp.illumina.com

製品名	カタログ番号
AmpliSeq for Illumina BRCA Panel	20019168
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (24 reactions)	20019101
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (96 reactions)	20019102
AmpliSeq for Illumina Library PLUS (384 reactions)	20019103
AmpliSeq for Illumina CD Indexes Set A (96 indexes, 96 samples)	20019105

表 3: 予測バリエント頻度と検出バリエント頻度間の高い一致

既知のバリエント	予測VF ^a	検出VF ^a	サンプル数	コール率
HD795 (Horizon Discovery高品質サンプル)				
BRCA2 N289H	7.5%	7.4%	16	100%
BRCA2 N991D	7.5%	7.2%	16	100%
BRCA2 D1420Y	32.5%	32.5%	16	100%
BRCA2 V2466A	100%	99.9%	16	100%
BRCA1 S1613G	7.5%	7.4%	16	100%
BRCA1 R1443STOP	32.5%	32.8%	16	100%
BRCA1 K1183R	7.5%	7.9%	16	100%
BRCA1 P871L	15.0%	14.5%	16	100%
BRCA1 K820E	7.5%	7.7%	16	100%
BRCA1 D435Y	7.5%	6.9%	16	100%
HD810 (Horizon Discoveryホルマリン固定サンプル)				
BRCA2 N289H	7.5%	7.0%	10	100%
BRCA2 N991D	7.5%	7.6%	10	100%
BRCA2 D1420Y	32.5%	33.9%	10	100%
BRCA2 V2466A	100%	99.9%	10	100%
BRCA1 S1613G	7.5%	7.3%	10	100%
BRCA1 R1443STOP	32.5%	33.9%	10	100%
BRCA1 K1183R	7.5%	7.5%	10	100%
BRCA1 P871L	15.0%	14.6%	10	100%
BRCA1 K820E	7.5%	7.7%	10	100%
BRCA1 D435Y	7.5%	7.1%	10	100%

a. VF : バリエント頻度

高品質サンプル (HD795) またはホルマリン固定サンプル (HD810) から
 のDNAはAmpliSeq for Illumina BRCA Panelを用いて評価し、MiSeqシス
 テムでシーケンスを行いました。結果より、予測SNVの100%を検出したこと
 が示されています。

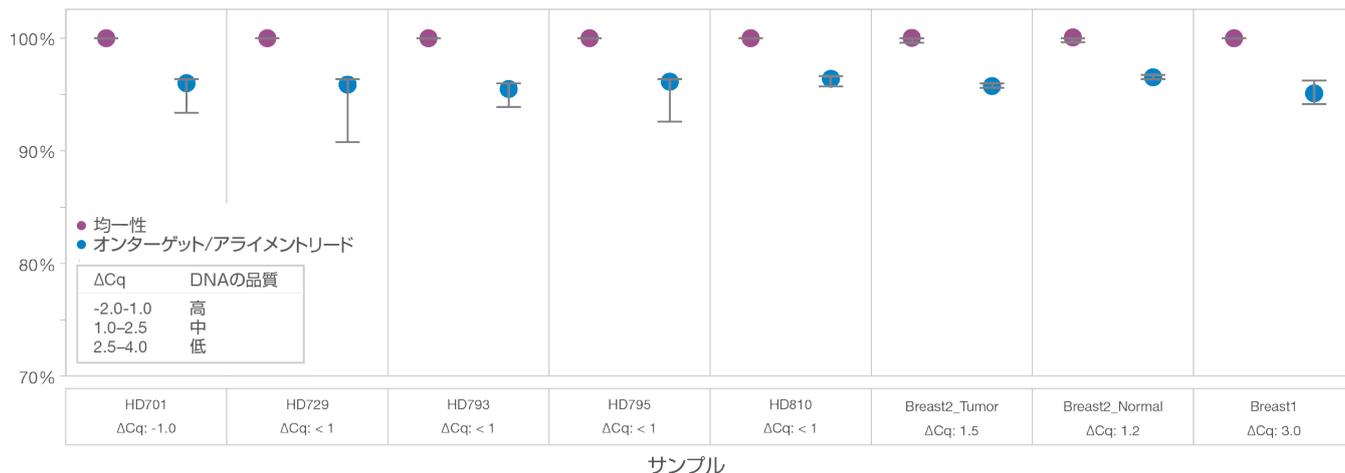


図 1:高いカバレッジ均一性とオンターゲットアライメント—品質の異なるHDサンプルおよび乳房組織サンプルから抽出したDNAはAmpliSeq for Illumina BRCA Panelを用いて調製し、MiSeqシステムでシーケンスを行いました。エラーバーは技術的のばらつきを示します。ΔCqはDNAの品質を示すインジケータです。

詳細はこちら

AmpliSeq for Illumina BRCA Panelに関する詳細はこちらから
jp.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-brca-panel.html

AmpliSeq for Illuminaのターゲットシーケンスソリューションの詳細については、こちらから概要をご覧ください
jp.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/ampliseq-for-illumina-targeted-resequencing-solution-data-sheet-770-2017-022.pdf

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

jp.illumina.com

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。診断での使用はできません。 販売条件：jp.illumina.com/tc

© 2017 Illumina, Inc. All rights reserved.

Illumina, BaseSpace, BeadArray, BeadXpress, cBot, CSPPro, DASL, Design Studio, GAllx, Genetic Energy, Genome Analyzer, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, Innium, iSelect, MiSeq, Nextera, NextSeq, NovaSeq, 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. 770-2017-029-A-JPN

