

# Agilent SureSelect Cancer カスタムパネル

## カスタマイズされた洞察に基づくがんゲノムプロファイリング

### 主なメリット

- グローバルに厳選されたがん遺伝子リストをカスタムパネルの設計に活用
- 機械学習による、ガイド付きの使いやすいパネル設計ソフトウェア
- ターゲットサイズ 1 kb ~ 24 Mb の拡張可能なカスタムがんパネル
- カスタムがんパネルデザインに TMB および MSI をシームレスに導入
- 柔軟性の高いデータ解析オプション

### 概要

Agilent SureSelect Cancer カスタムパネルは、新規のバイオマーカーの導入など、特定のラボ要件を満たすようにカスタマイズされた、次世代シーケンシング (NGS) パネルによるがんゲノムプロファイリングを実現します。これらのカスタムパネルは、ユーザーフレンドリーなソフトウェア、Agilent SureDesign で設計されています。Agilent SureDesign により、がんデータベースと主要な臨床がん研究者たちから供給された、事前定義済みの、世界中から選ばれた遺伝子リストに簡単にアクセスできます。使用可能な遺伝子リストは、カタログ DNA パネル：Agilent SureSelect Cancer CGP DNA パネルおよび腫瘍特異的パネル（肺、大腸、乳房、前立腺、胃・食道、膵臓、悪性黒色腫、腎臓および膀胱）をベースとしています。

SureSelect Cancer カスタムパネルをライブラリ調製およびターゲットエンリッチメント用の試薬と組み合わせることで、一塩基置換 (SNV)、コピー数多型 (CNV)、挿入/欠失 (Indel)、転座 (TL) など、主要な種類の体細胞バリエーションをすべて検出できます。さらに、これらのカスタム DNA パネルの設計は、がん免疫バイオマーカーである腫瘍遺伝子変異量 (TMB)、マイクロサテライト不安定性 (MSI) の評価に加え、相同組み換え修復欠損 (HRD) の評価を含めるオプションにも対応しています。遺伝子融合トランスクリプト検出の場合、これらのカスタムパネルを SureSelect Cancer CGP RNA Assay (80 遺伝子) と組み合わせて、同じシーケンスランで多重処理することも可能です。SureSelect Cancer カスタムパネルは、さまざまなベンダーのシーケンシング機器 (Illumina、Element Biosciences、Pacific Biosciences および MGI) と互換性があります。

SureSelect Cancer カスタムパネルは、効率と性能に優れた Agilent SureSelect XT HS2 ライブラリ調製およびターゲットエンリッチメントケミストリに対応しています。このアッセイは、90 分の高速度ハイブリダイゼーションステップ、10 ng の少ないサンプル量、シーケンスレディのライブラリを 1 日で調製可能なワークフローが特長です。また、酵素による断片化を実施することで、物理的断片化の装置が不要で、優れた利便性を実現します。手作業時間わずか 15 分で、すぐにシーケンス可能なライブラリを調製できる完全自動化プラットフォーム、Agilent Magnis NGS Prep システムにより、ワークフロー効率が大幅に向上し、ラボベンチでの作業を最小限にすることができます。

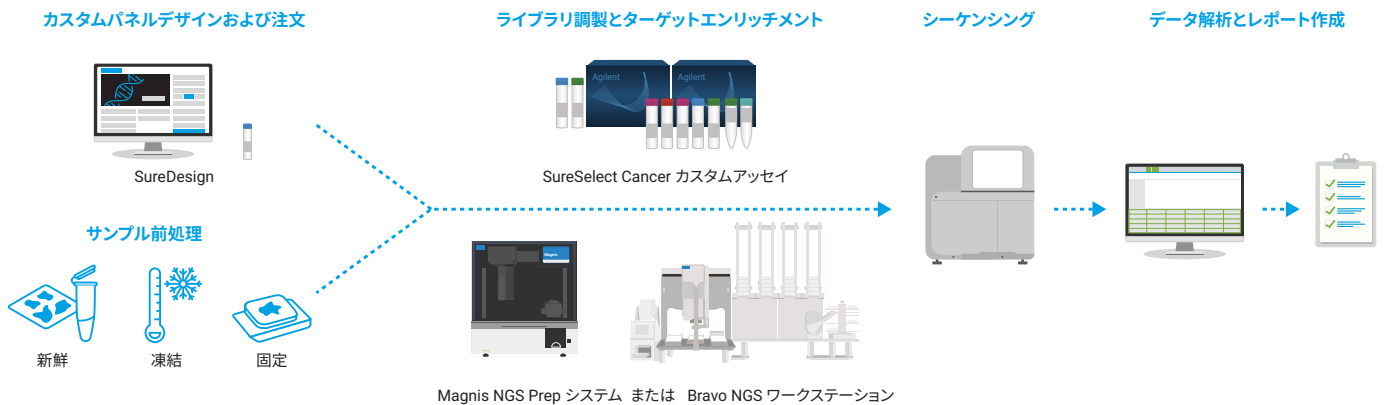


図 1. NGS ワークフローは、機械学習に基づくプローブ設計のためのウェブポータル、SureDesign ソフトウェアによる SureSelect Cancer カスタムパネルの設計から始まります。ワークフローには、Agilent TapeStation システムを用いたサンプルおよび NGS ライブラリ QC が組み込まれています。ライブラリ調製とターゲットエンリッチメントは、手動により、またはシーケンス可能なライブラリを調製するために手作業時間がわずか 15 分のベンチトップ Agilent Magnis NGS Prep システムや、高スループットの自動化装置 Agilent Bravo NGS ワークステーションを用いて行うことができます。シーケンシングは互換性のあるシーケンシングシステムで実行します。データ解析オプションは、Agilent Alissa Reporter や、ユーザーのインハウスソフトウェアおよびサードパーティ製ソフトウェアから柔軟に選択できます。

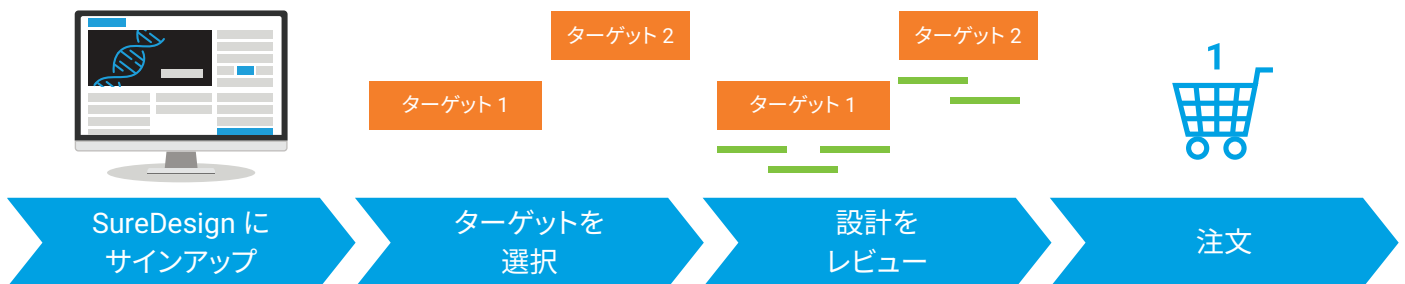


図 2. SureSelect Cancer カスタムパネルは迅速かつ簡単に設計できます。登録すると SureDesign ソフトウェアをすぐに使用することが可能です。SureDesign のガイド付きの設計プロセスでは、事前定義済みの世界中から厳選されたがん遺伝子リストに基づきターゲットを選択できます。独自の遺伝子セットを追加するオプションも用意されています。設計レビューの後、SureDesign により新しく設計された SureSelect Cancer カスタムパネルを注文するための見積もり依頼が可能です。

A

図 3. SureDesign 8.0 ソフトウェアにより、SureSelect Cancer カスタムパネルを迅速かつ簡単に設計できます。**A.** SureDesign でユーザーはガイドに従い、カタログ汎がんパネル (SureSelect Cancer CGP DNA パネルの 679 遺伝子)、9 つの腫瘍特異的パネル (それぞれ約 50 遺伝子) およびユーザーの遺伝子リストに基づく、グローバルに厳選された遺伝子のリストからターゲットを選択して SureSelect Cancer カスタムパネルを設計できます。**B.** SureDesign には、SureSelect Cancer カスタムパネルの設計において、がん免疫バイオマーカー、TMB、MSI の評価を含めるオプションもあります。TMB を測定するために、最低 1 Mb のエクソンコンテンツが強く推奨されます。<sup>1</sup> MSI の検出に関しては、カスタムパネルの設計にマイクロサテライト領域を含むプローブセットが追加されます。**C.** カスタム設計をレビューした後、ユーザーは SureDesign 内で SureSelect Cancer カスタムパネルとともに必要なライブラリ調製およびターゲットエンリッチメントキットの見積もり依頼をすることができます。

B

C

## 信頼性の高い結果を提供する優れたターゲットカバレッジ

表 1. 5 つのカスタムパネルを SureSelect Cancer カスタムパネルとして SureDesign 8.0 で設計しました。カスタム CGP パネルの設計では、カタログ汎がんパネル、SureSelect Cancer CGP DNA パネルからの多数の遺伝子のサブセットをカバーしています。4 つの小さなパネルは、SureDesign で該当の腫瘍特異的遺伝子リストに基づき設計しました。各パネルのターゲットサイズとおおよその遺伝子数を表に示します。これらのパネルは受注製造で、図 4 と表 2 および表 3 に記載のアッセイで使用されています。

SureSelect Cancer カスタムパネル	サイズ (Mb)	遺伝子の数
Custom CGP Panel	1.42	約 300
Custom Breast Panel	0.45	約 50
Custom Lung Panel	0.53	約 50
Custom Gastric Panel	0.36	約 50
Custom Bladder Panel	0.33	約 50

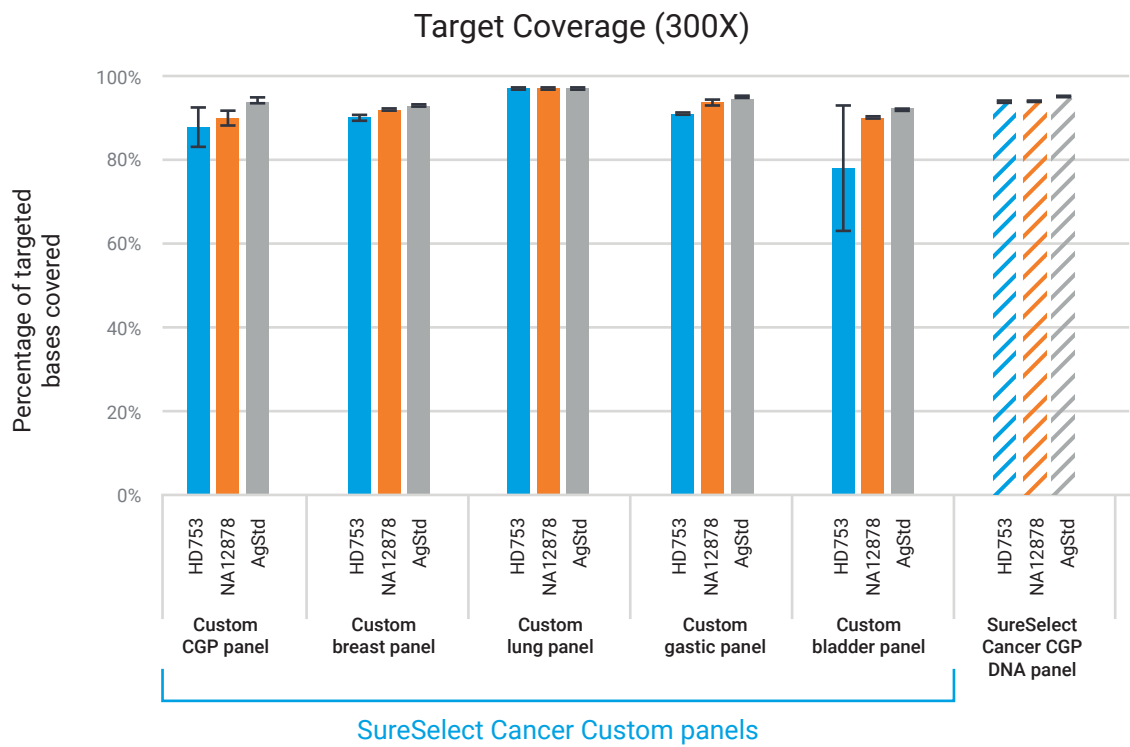


図 4. SureSelect Cancer カスタムパネルの優れたエンリッチメント効率により、深いターゲットカバレッジを実現します。SureSelect Cancer カスタムパネルを用いた各アッセイに対し、カバレッジが 300 X 以上のターゲット塩基を示します。カタログ SureSelect Cancer CGP Assay (部品番号 G9967B) も参照用として含まれています。ターゲット塩基の 75 % 以上でカバレッジが 300 X 以上となり、SureSelect Cancer カスタムアッセイは高いターゲットカバレッジを示しています。パネルのコンテンツとサイズに基づく高いカバレッジは、対象のターゲット遺伝子領域をキャプチャする、SureSelect Cancer カスタムパネルの優れた精度と効率を示しています。試験したサンプルは、Horizon および アジレント・テクノロジーの次の参照サンプルです。Horizon Discovery Structural Multiplex Reference Standard gDNA (HD753)、Coriell Institute HapMap DNA NA12878 および Agilent OneSeq Reference DNA, Female (部品番号 5190-8850, AgStd)。示された参照サンプルの DNA 50 ng を、Agilent SureSelect XT HS2 ライブラリ調製試薬を用いて酵素による断片化を行い、SureSelect Cancer アッセイの推奨に従って処理し、Illumina NovaSeq 6000 (2 x 150 bp リード) でシーケンシングを実施しました。データは、解析のために約 2000 X シーケンシングカバレッジ (2 x 150 bp リード) にダウンサンプリングしました。各パネルに対してターゲットファイルを使用してシーケンスマトリクスを決定しました。

## 主要な体細胞バリエーションの一貫性の高い検出

表 2. SureSelect Cancer カスタムパネルは、バリエーションアリル頻度 (VAF) が 5 % の、一塩基置換 (SNV)、挿入 (in)、欠失 (del)、コピー数多型 (CNV) を優れた再現性で検出できます。カタログ SureSelect Cancer CGP DNA パネルも参照として含めています。50 ng の Horizon Discovery Structural Multiplex Reference Standard gDNA (HD753) をアッセイに用い Illumina NovaSeq6000 Sequencer でシーケンシングしました。データは、解析のために約 2000 X シーケンシングカバレッジ (2 x 150 bp リード) にダウンサンプリングし、社内で開発した SNP caller を使用してバリエーションを分析しました。測定されたアリル頻度は、3 回の繰り返しアッセイの平均を表しています。すべてのバリエーションが、3 回の繰り返し分析すべてで検出されました。グレーの欄は、該当の SureSelect Cancer カスタムパネルでターゲットではない遺伝子を表しています。

遺伝子	バリエーション	バリエーションの種類	予想 VAF	測定バリエーションアリル頻度 (VAF)					
				SureSelect Cancer CGP Assay	SureSelect Cancer カスタムアッセイ				
					カスタム CGP パネル	Custom Breast Panel	Custom Lung Panel	Custom Gastric Panel	Custom Bladder Panel
AKT1	E17K	SNV	5.0 %	5.5 %	5.6 %	4.7 %	3.8 %		5.0 %
BRCA2	K1691Nfs*15	1 bp 欠失	5.6 %	4.5 %		7.5 %			
BRAF	V600E	SNV	18.2 %	15.8 %	15.9 %	16.2 %	16.2 %		15.0 %
EGFR	G719S	SNV	5.3 %	4.3 %	5.2 %		5.5 %		
EGFR	ΔE746 - A750	9 bp 挿入	5.0 %	1.8 %	2.1 %		2.9 %		
FBXW7	S668Vfs*39	1 bp 欠失	5.6 %	4.7 %	4.3 %	5.6 %		4.8 %	
FLT3	P986Afs*27	2 bp 欠失	5.6 %	5.0 %	6.8 %				
GNA11	Q209L	SNV	5.6 %	5.5 %	5.6 %				
KRAS	G13D	SNV	5.6 %	4.9 %	5.8 %	4.6 %	5.1 %	4.5 %	5.0 %
MET	L238Yfs*25	1 bp 欠失	2.5 %	2.9 %	2.4 %	3.0 %	2.9 %		
PIK3CA	E545K	SNV	5.6 %	4.6 %	5.4 %	4.0 %	4.4 %	5.0 %	5.0 %
PIK3CA	H1047R	SNV	16.7 %	14.7 %	14.9 %	15.7 %	14.3 %	15.1 %	15.0 %
MET	増幅	CNV	4.5 コピー	5.0 コピー	4.0 コピー	3.7 コピー	3.3 コピー	3.0 コピー	3.0 コピー
N-MYC	増幅	CNV	9.5 コピー	9.0 コピー	7.0 コピー	7.3 コピー	8.0 コピー	8.0 コピー	7.0 コピー

表 3. SureSelect Cancer カスタムパネルの設計アプローチにより、がん免疫バイオマーカー、TMB および MSI を高い精度で検出できます。MSI/TMB ステータスが低い腫瘍サンプルは、免疫療法に対して良好な反応性を示します。サンプルは営利ベンダーから入手しました。参照 MSI ステータスを 2 番目の列に示します。カスタム CGP パネルとカタログ SureSelect Cancer CGP Assay との間で高い一致率が観察されました。マイクロサテライト安定 (MSS) サンプル (Colon\_1, Bladder\_1, Colon\_2) は低い TMB/MSI スコアを示し、一方で MSI の高いサンプル (Colon\_3, HD753) は高い TMB/MSI スコアを示しました。スコアはアジレントの内部解析ソフトウェアを使用して決定しました。

サンプル ID	参照 MSI ステータス	カスタム CGP パネル				SureSelect Cancer CGP Assay	
		TMB スコア	TMB ステータス	MSI スコア	MSI ステータス	TMB スコア	MSI スコア
Colon_1	MSS	5.0	低	15	MSS	7.5	16
Bladder_1	MSS	8.0	低	14	MSS	13.0	15
Colon_2	MSS	9.3	低	13	MSS	8.0	14
Colon_3	MSI-H	56.3	高	61	MSI-H	54.5	64
HD753	MSI-H	210.0	高	75	MSI-H	195.0	77

## 製品情報

SureSelect Cancer カスタムパネルキャプチャライブラリ			
製品説明	16 Rxns	96 Rxns	96 Rxns Auto*
SureSelect Cancer カスタムパネルキャプチャライブラリ、DNA、Tier 1 (最大 499 kbp または 60,500 プローブ)	5282-0164	5282-0165	5282-0166
SureSelect Cancer カスタムパネルキャプチャライブラリ、DNA、Tier 2 (0.5 ~ 2.999 Mbp、または最大 121,000 プローブ)	5282-0167	5282-0168	5282-0169
SureSelect Cancer CGP DNA カタログ + Tier 1 カスタムパネルキャプチャライブラリ	5282-0170	5282-0171	5282-0172
SureSelect カスタムキャプチャライブラリ、Tier 3 (3.0 ~ 5.999 Mbp、または最大 181,500 プローブ)	5191-6910	5191-6911	5191-6912
SureSelect カスタムキャプチャライブラリ、Tier 4 (6.0 ~ 11.999 Mbp、または最大 242,000 プローブ)	5191-6915	5191-6916	5191-6917
SureSelect カスタムキャプチャライブラリ、Tier 5 (12.0 ~ 24 Mbp、または最大 363,000 プローブ)	5191-6920	5191-6921	5191-6922
SureSelect Cancer カスタムアッセイ—手動のライブラリ調製およびターゲットエンリッチメント用キット			
製品説明	16 Rxns	96 Rxns	96 Rxns Auto*
SureSelect XT HS2 DNA スターターキット (Index Primer Pairs 1 ~ 16)、16 反応**	G9982A		
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 Enzymatic Fragmentation Kit、96 反応		5191-4080	5191-6764
SureSelect Cancer カスタムアッセイ—ライブラリ調製およびターゲットエンリッチメント用の完全なキット (自動化 Magnis NGS Prep システムで使用するためのカスタムプロローブを含む)			
製品説明	32 Rxns Auto	96 Rxns Auto	
Magnis SureSelect Cancer XT HS2 DNA カスタムアッセイ、Tier 1	G9777E#010	G9777F#010	
Magnis SureSelect Cancer XT HS2 DNA カスタムアッセイ、Tier 2	G9777E#020	G9777F#020	
Magnis SureSelect Cancer XT HS2 DNA カスタムアッセイ、Tier 3	G9777E#030	G9777F#030	
Magnis SureSelect Cancer XT HS2 DNA カスタムアッセイ、Tier 4	G9777E#040	G9777F#040	
Magnis SureSelect Cancer XT HS2 DNA カスタムアッセイ、Tier 5	G9777E#050	G9777F#050	
SureSelect Cancer CGP RNA Assay—手動ライブラリ調製およびターゲットエンリッチメントキット			
製品説明	16 Rxns	96 Rxns	
SureSelect Cancer CGP Assay RNA キット	G9968A	G9968B	
SureSelect Enzymatic Fragmentation Kit	5191-4079	5191-4080	
SureSelect Cancer CGP RNA Assay—ライブラリ調製およびターゲットエンリッチメント用自動化キット			
製品説明	32 Rxns Auto	96 Rxns Auto	
Magnis SureSelect Cancer CGP XT HS2 RNA キット	G9777C	G9777D	
SureSelect Cancer CGP Assay RNA キット、Auto		G9968C*	
SureSelect Enzymatic Fragmentation Kit、Auto		5191-6764*	

\*自動化 Bravo NGS ワークステーションおよびその他のリキッドハンドリングシステムに対応。

\*\*酵素による断片化試薬を含む。

## 参考文献

1. Allgäuer, M.; Budczies, J.; Christopoulos, P.; Endris, V.; Lier, A.; Rempel, E.; Volckmar, A.-L.; Kirchner, M.; von Winterfeld, M.; Leichsenring, J.; Neumann, O.; Fröhling, S.; Penzel, R.; Thomas, M.; Schirmacher, P.; Stenzinger, A. Implementing Tumor Mutational Burden (TMB) Analysis in Routine Diagnostics - A Primer for Molecular Pathologists and Clinicians. *Transl.Lung Cancer Res.* **2018**, 7 (6), 703-715. DOI: 10.21037/tlcr.2018.08.14.

### [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。

G240638

[www.agilent.com/genomics/genomics-jp](http://www.agilent.com/genomics/genomics-jp)

© Agilent Technologies, Inc. 2024

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, April 1, 2024

5994-7308JAJP