

SureSelect Cancer All-In-One Catalog and Custom Assays

1回の SureSelect アッセイでさまざまなタイプのがん関連変異を検出



Single DNA input



Single AIO assay



Single data analysis



SureSelect Cancer All-In-One アッセイ

SureSelect Cancer All-In-One (AIO) アッセイは、画期的な新しいタイプの NGS アッセイです。このアッセイにより、一塩基変異 (SNV)、InDel、コピー数変異 (CNV)、およびトランスロケーションを単一のアッセイで検出することが可能です。貴重ながんサンプルから重要な遺伝子についての変異プロファイルを、1 回のアッセイで迅速かつ費用対効果よく取得することができるようになりました。

新しい AIO アッセイには、カタログ製品およびカスタムパネル (SureDesign ツールを使用して作成) があり、NGS ライブラリ調製用に SureSelectXT HS または SureSelectXT Low Input Reagent キットを使用し、データ解析には無償の SureCall ソフトを使用します。カスタムパネルを使用すると、独自の研究ニーズに合わせて特化したコンテンツを含む、高性能な NGS アッセイを構築することができます。SureSelect Cancer AIO アッセイは、多くのラボのニーズを満たすことができる柔軟な NGS ワークフローの一部として、シンプルでありながら高感度にゲノム変異を検出可能なワークフローを提供します (図 1)。

シンプルなワークフロー

SureSelect Cancer AIO ワークフローには、次のような利点があります。

- 1 回の DNA アッセイからより多くの情報を得るために、複数のアッセイを統合
- 36 時間以内に DNA からシーケンシング可能なライブラリを作製可能
- パネルデザインからデータ解析までのトータルソリューション
- カタログ製品を使用すればより簡単にスタート

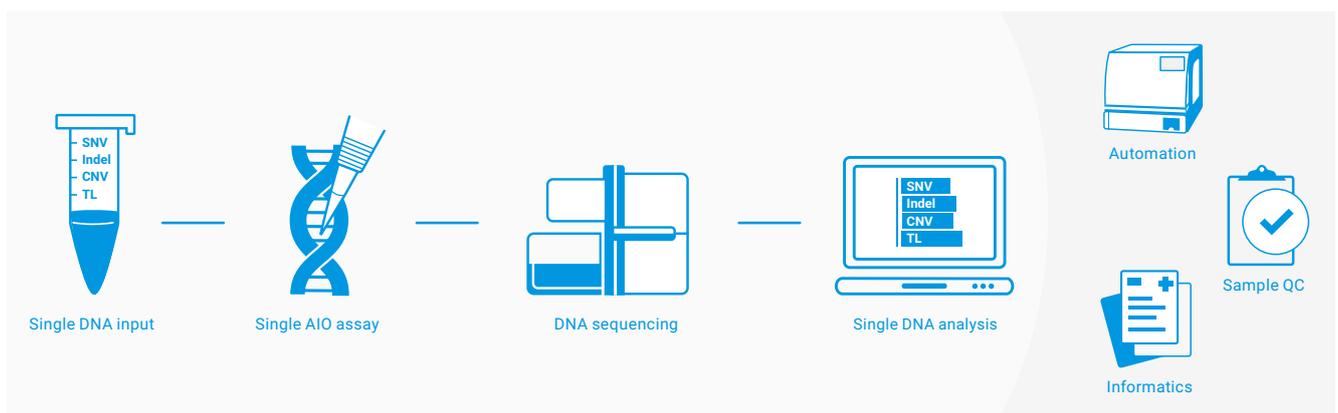


図 1. SureSelect Cancer All-In-One ソリューションは、Alissa Clinical Informatics プラットフォーム (対応準備中) または Agilent SureCall ソフトウェアを用いてアラインメントとバリエーションコールを行い、さまざまなタイプの変異の検出を、DNA のみのインプット、単一のデータ解析プラットフォームを用いて行うことが可能で、統合されたワークフローを実現します。Magnis NGS Prep System を用いて、ライブラリ調製を途中操作のない完全な自動化で行うことも可能です。検出された変異の評価に Alissa Interpretation Module を利用可能です。

SureSelect Cancer All-In-One Lung アッセイ

SureSelect Cancer All-In-One Lung アッセイでは、非小細胞肺癌 (NSCLC) に臨床的に関連する 20 の遺伝子を解析可能です (表 1)。

National Comprehensive Cancer Network (NCCN)、College of American Pathologists (CAP)、および European Society for Medical Oncology (ESMO) のガイドラインで、NSCLC に関連するとされるすべての体細胞変異が含まれていません。

ターゲットとしている変異タイプ：●SNV/indel ■CNV ◆転座

表 1. SureSelect Cancer All-In-One Lung アッセイの標的遺伝子および関連する変異タイプ

AKT1 ●	DDR2 ●	FGFR3 ◆	NRAS ●	RET ◆
ALK ●◆	EGFR ●	KRAS ●	NTRK1 ◆	ROS1 ◆
BRAF ●	ERBB2 ●■	MEK1 ●	PIK3CA ●	STK11 ●
CD274 ■	FGFR1 ■	MET ●■	PTEN ●■	TP53 ●

SureSelect Cancer All-In-One Solid Tumor アッセイ

SureSelect Cancer All-In-One Solid Tumor アッセイでは、肺がん、乳がん、卵巣がん、大腸がん、前立腺がん、肉腫、および皮膚がんを含む複数の一般的な固形腫瘍に関連する 98 遺伝子の変異プロファイルを解析できます (表 2)。

ターゲットとしている変異タイプ：●SNV/indel ■CNV ◆転座

表 2. SureSelect Cancer All-In-One Solid Tumor アッセイの標的遺伝子および関連する変異タイプ

ABL1 ●	CDKN2A ●	FGFR4 ●	MLH1 ●	RAF1 ●◆
AKT1 ●	CDKN2B ●	FOXL2 ●	MSH2 ●	RB1 ●
ALK ●◆	CIC ◆	GNA11 ●	MSH6 ●	RET ●◆
APC ●	CSF1R ●	GNAQ ●	MTOR ●	RIT1 ●
AR ●■	CTNNB1 ●	GNAS ●	MYC ●■	ROS1 ●◆
ARAF ●	DDR2 ●	HNF1A ●	MYCN ●■	SMAD4 ●
ARID1A ●	DNMT3A ●	HRAS ●	MYD88 ●	SMARCB1 ●
ATM ●	EGFR ●◆	IDH1 ●	NF1 ●	SMO ●
BCL2 ●	ERBB2 ●■	IDH2 ●	NF2 ●	SRC ●
BCR ●	ERBB3 ●	JAK2 ●	NFE2L2 ●	STK11 ●
BRAF ●◆	ERBB4 ●	JAK3 ●	NOTCH1 ●	TERT ●
BRCA1 ●	ESR1 ●	KDR ●	NRAS ●	TMPPRSS2 ●◆
BRCA2 ●	ETV1 ●	KIT ●	NTRK1 ●◆	TP53 ●
CCND1 ■	ETV4 ●	KMT2A ●	PDGFRA ●	TSC1 ●
CCND2 ●	ETV6 ●	KRAS ●■	PDGFRB ●	TSC2 ●
CCNE1 ●	EZH2 ●	MAP2K1 ●	PIK3CA ●■	VEGFA ●
CD274 ●■	FBXW7 ●	MAP2K2 ●	PIK3R1 ●	VHL ●
CDH1 ●	FGFR1 ●◆	MAP2K4 ●	PTCH1 ●	WT1 ●
CDK4 ●■	FGFR2 ●◆	MDM2 ●■	PTEN ●■	
CDK6 ●■	FGFR3 ●◆	MET ●■	PTPN11 ●	

なぜ、RNA を使用した融合トランスクリプトの検出よりも DNA を使用したトランスロケーションの検出が選択されるのでしょうか？

RNA を用いた融合トランスクリプトの検出には、さまざまな利点がありますが、保存状態のよくないサンプル由来の RNA の利用には限界があること、また DNA と RNA の双方のワークフロー・データ解析が必要になるなどプロセスが複雑で、課題が残っています。したがって、標的とする転座遺伝子が少数の場合、DNA を用いた転座検出は、DNA アッセイのみで包括的なゲノムプロファイリングを取得可能な有力な選択肢です。RNA を用いた融合トランスクリプト検出をワークフローに追加すると、コストが大幅に増加する可能性がある点もアッセイ法選択の上で重要なポイントとなります。

高感度での検出

SureSelect Cancer All-In-One アッセイの主な利点は、さまざまな種類の変異を高感度で検出できる点です (表 3、図 2、図 3)。

SureSelect Cancer AIO では、以下のことができます。

- 8000x 以上のシーケンス深度で 1% という低いアリル頻度でも SNV と indels を検出
- 腫瘍クローン画分が低い場合でも、増幅・欠失を含め、Somatic CNV を遺伝子レベルで検出
- DNA で高感度にトランスロケーションを検出するために、トランスロケーション・ドライバ遺伝子をターゲットに設定

			HD799	HD803
遺伝子	バリエーション	予想 VAF、%	検出された VAF、%	検出された VAF、%
BRAF	V600E	10.5	12.9	11.4
EGFR	L858R	3.0	6.7	3.4
EGFR	Δ E746-A750	2.0	1.5	1.0
EGFR	T790M	1.0	1.3	1.3
EGFR	G719S	24.5	26.0	23.5
KRAS	G13D	15.0	13.9	16.5
KRAS	G12D	6.0	4.3	5.2
KRAS	Q61K	12.5	11.0	12.8
PIK3CA	H1047R	17.5	22.7	19.2
PIK3CA	E545K	9.0	9.3	9.2

表 3. SureSelect Cancer All-In-One Lung アッセイを用いて、Horizon Discovery 社のレファレンスサンプル HD799 および HD803 で、アリル頻度が 1% のアクションナブルな変異が検出されました。これらのサンプルはホルマリン固定を行っているため、DNA 品質は中程度 (HD799)、分解が進んだ状態 (HD803) でした。

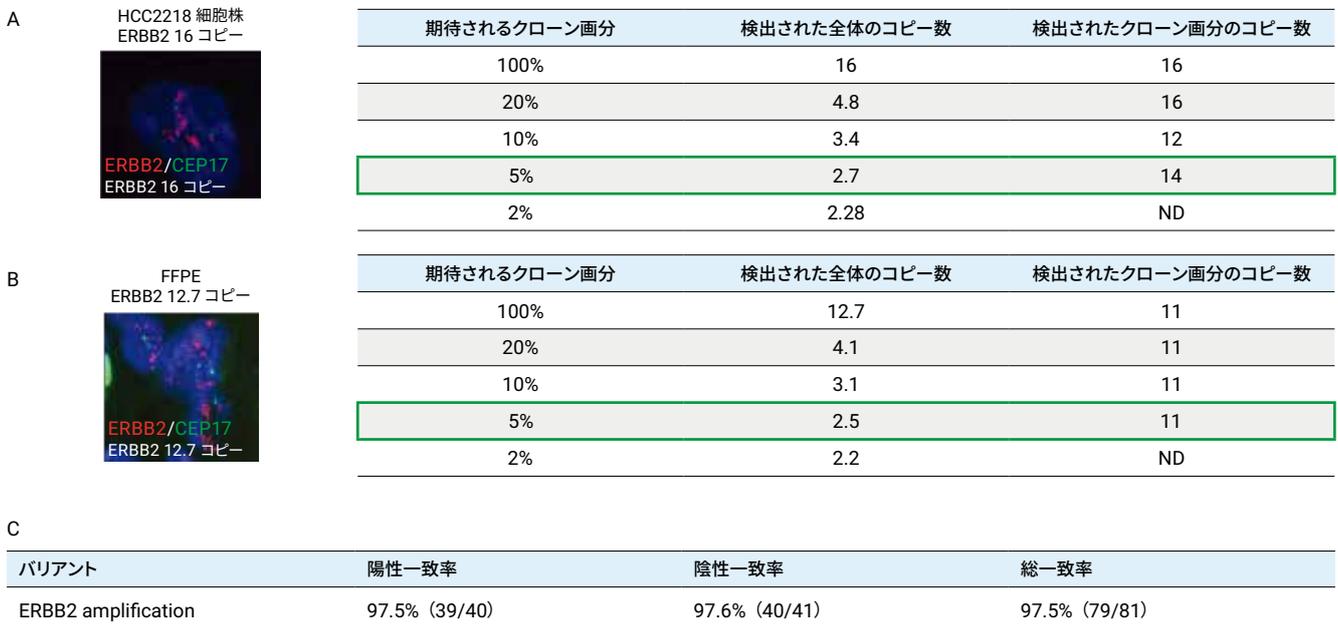
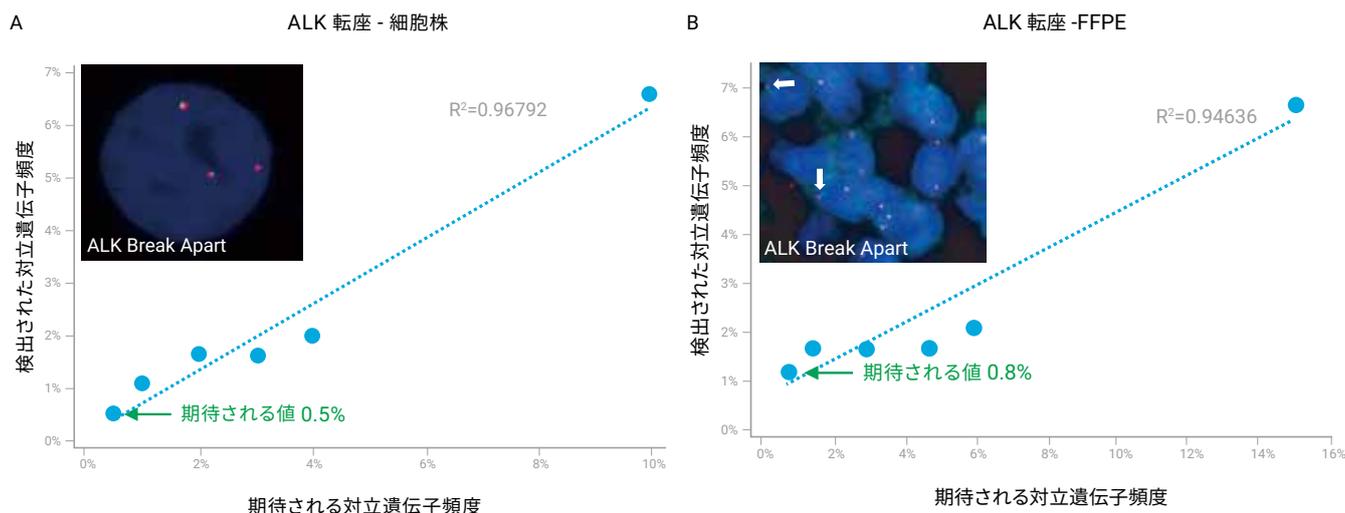


図 2. SureSelect Cancer All-In-One Lung アッセイによる高感度 CNV 検出: ERBB2 の増幅を保有する (A) HCC2218 細胞株、および (B) FFPE サンプルをそれぞれ希釈して、様々な腫瘍クローン画分とした。期待される ERBB2 のコピー数は CEP17 (型番 G110993-85601) と ERBB2 (型番 G100046R-8) にデザインされた Agilent SureFISH プローブにより測定した。希釈による期待される腫瘍クローン画分および AIO Lung アッセイで検出されたコピー数と腫瘍クローン画分のコピー数を表に示す。(C) FISH による ERBB2 増幅について陽性または陰性の FFPE サンプルコホートにおける、ERBB2 増幅についての FISH と AIO Lung アッセイの一致率を示す。50 ng のインプット DNA 量で、イルミナシーケンサにて 900 万リード取得したデータに基づく。ND は検出せずを示す。



C

バリエント	陽性一致率	陰性一致率	総一致率
ALK translocation	90.7% (39/43)	100% (54/54)	95.9% (93/97)

図 3. SureSelect Cancer All-In-One 肺アッセイによる高感度転座の検出：EML4-ALK 転座を有する (A) H2228 細胞株および (B) FFPE サンプル由来の DNA を、様々な変異頻度 (VAF) となるように希釈した。Dako ALK IQFISH Break-Apart プローブ (型番 G11800-2 と GG221600-8) により ALK 転座を確認した。期待される VAF および検出された VAF をプロットし、ALK break-apart FISH 画像をそれぞれのプロットに示す。(C) FISH による ALK break-apart が陽性または陰性の FFPE サンプルコーホートにおける FISH と AIO Lung アッセイによる ALK 転座の一致率を示す。50 ng のインプット DNA 量で、イルミナシーケンサにて 900 万リード (A・B) および～ 1800 万リード (C) 取得したデータに基づく。

柔軟なソリューション

SureSelect Cancer AIO アッセイは、さまざまな研究ニーズに対応するための多くの選択肢を提供しています (図 4)。

- SNV、InDel、CNV、および転座をターゲットとし、最適化されたプローブを用いた容易なカスタマイズ (SureDesign ツールを使用)
- 小規模からハイスループットまで幅広く対応した自動化オプションとキットのサイズ

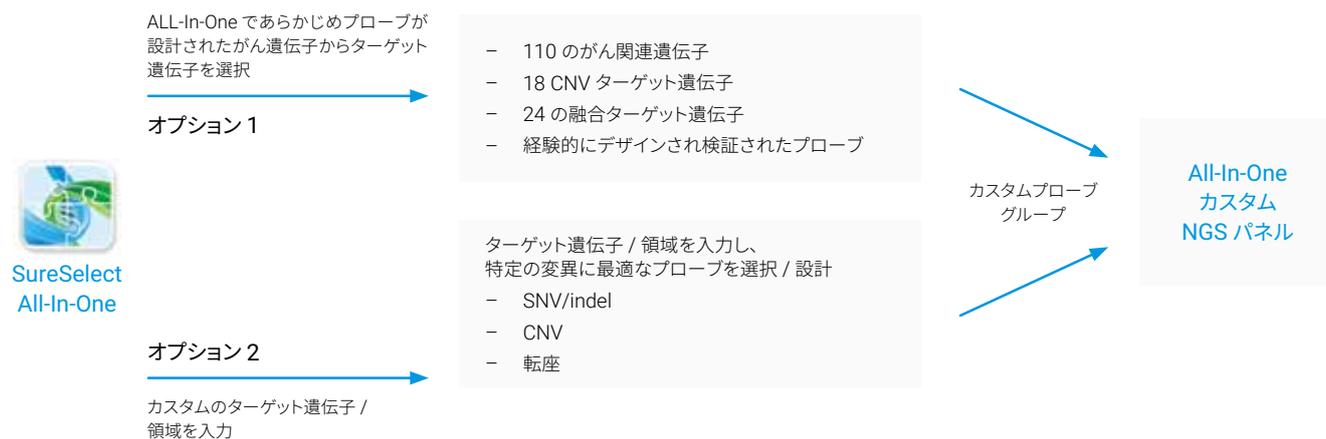


図 4. SureDesign の All-In-One カスタムデザインワークフローの説明図。SureDesign のウィザードによる SureSelect All-In-One デザインワークフローに従って、All-In-One であらかじめ設計されたプローブを選択するか、カスタムでターゲット遺伝子、ゲノム領域を入力して、SNV/InDel、CNV、転座検出のために最適化されたプローブ設計を新たに行うことが可能です。2つのオプションで作成されたカスタムプローブグループは、単独で使用することも、組み合わせて最終的な All-In-One カスタムデザインを作成することもできます。

注：SureCall ソフトウェアは、現在、同じ遺伝子における CNV および転座の検出をサポートしていません。

シームレスで包括的な NGS ワークフロー



1. サンプル QC

TapeStation システム

Agilent TapeStation システムは、広範囲の DNA および RNA サンプルの品質管理のための自動電気泳動ソリューションです。使いやすく、高精度の分析を実現したスクリーンテープ技術を採用しています。

詳細については、<https://www.chem-agilent.com/contents.php?id=1003693> をご覧ください。



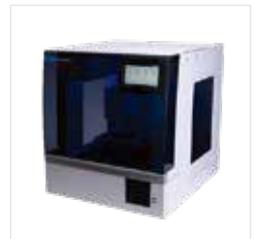
2. SureSelect Cancer AIO アッセイ Agilent AIO アッセイは、単一の SureSelect アッセイでさまざまながん関連変異の検出が可能。(1 ~ 4 ページ参照)

3. 自動化

Magnis NGS prep システム

Magnis NGS prep システムは、SureSelect All-In-One アッセイの実行に必要なスタッフおよび NGS に関するノウハウが最小限でも実行可能な、完全自動化ソリューションです。装置上の画面ウィザードは、自動の二次元バーコードチェックにより試薬の配置を補助し、5 分以内にセットアップすることができます。いったんスタートボタンを押せば、完全な自動化を実現します。

詳しくは、www.agilent.com/chem/magnis をご覧ください。



Bravo NGS (A) および NGS Workstation (B)

アジレント社の NGS 自動化ソリューションは、データの質に影響を及ぼすことなく、サンプル調製のスループットを容易に向上させることができます。あらかじめサンプル調製プロトコルが組み上げられており、ソフトウェアは直感的に実行可能なインターフェースなので、プログラミング等の専門知識を必要とせず使用可能です。

詳しくは、<https://www.chem-agilent.com/contents.php?id=1000854> をご覧ください。



4. バイオインフォマティクス

SureCall デスクトップソフトウェア

NGS データ分析用に設計された SureCall は、SureSelect Cancer AIO カタログおよびカスタムアッセイのためのデータ解析をサポートし、生データから SNV、InDel、CNV および転座をコールします。

詳細については、<https://www.chem-agilent.com/contents.php?id=100344> をご覧ください。



Alissa Clinical Informatics プラットフォーム

生データのアラインメントからアノテーション、変異の分類、結果が出るまでの時間の短縮へと、シームレスなワークフローを実現。アライメントと変異コール、アノテーション、レポートまでを効率的かつデータセキュリティを保持した状態で行うことができます。

詳しくは、www.agilent.com/lifesciences/alissa をご覧ください。



* Alissa Clinical Informatics プラットフォームによる SureSelect Cancer AIO に対するアラインメントと変異コールはまもなく対応予定。現在、変異の解釈およびレポートの機能についてはサポートされています。

注文情報

カタログアッセイ

型番	品名
マニュアル用	
G9704R	SureSelect Cancer AIO lung + SureSelect XT HS Reagents(index 1-16), 16 反応
G9705R	SureSelect Cancer AIO lung + SureSelect XT HS Reagents (index 17-32), 16 反応
G9706R	SureSelect Cancer AIO lung + SureSelect XT HS Reagents (index 1-32), 96 反応
G9707R	SureSelect Cancer AIO lung + SureSelect XT Low Input Reagents (index 1-96), 96 反応
G9708R	SureSelect Cancer AIO lung + SureSelect XT Low Input Reagents (index 97-192), 96 反応
G9704S	SureSelect Cancer AIO solid tumor + SureSelect XT HS Reagents (index 1-16), 16 反応
G9705S	SureSelect Cancer AIO solid tumor + SureSelect XT HS Reagents (index 17-32), 16 反応
G9706S	SureSelect Cancer AIO solid tumor + SureSelect XT HS Reagents (index 1-32), 96 反応
G9707S	SureSelect Cancer AIO solid tumor + SureSelect XT Low Input Reagents (index 1-96), 96 反応
G9708S	SureSelect Cancer AIO solid tumor + SureSelect XT HS Reagents (index 17-32), 16 反応
自動化用	
G9507R	SureSelect Cancer AIO lung + SureSelect XT Low Input Reagents (index 1-96), 96 反応, Auto
G9508R	SureSelect Cancer AIO lung + SureSelect XT Low Input Reagents (index 97-192), 96 反応, Auto
G9507S	SureSelect Cancer AIO solid tumor + SureSelect XT Low Input Reagents (index 1-96), 96 反応, Auto
G9508S	SureSelect Cancer AIO solid tumor + SureSelect XT Low Input Reagents (index 97-192), 96 反応, Auto

※対応 NGS 機種：イルミナ社の装置

カスタムアッセイ

カスタム作製も承ります。詳細はお問い合わせください。

[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

●カスタム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研究用です。

その他の用途にご利用いただくことはできません。

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

(G190260)

© Agilent Technologies, Inc. 2019

本書の一部または全部を書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 11, 2019

5994-0668JAJP