

AmpliSeq™ for Illumina Comprehensive Panel v3

DNAまたはRNAから、さまざまながん種に関連する161遺伝子のバリエーションを迅速かつ高精度に探索

特長

- 関連遺伝子のコンテンツ
161の固有ながん関連遺伝子をターゲット
- 迅速かつ効率的なワークフロー
わずか1 ngの高品質DNA/RNAまたはFFPE組織からの10 ngのDNA/RNA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%までの体細胞変異を検出

はじめに

AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3は、ターゲットリシーケンスに用いることが可能で、既知のがん関連161遺伝子の体細胞変異を調べることができます(表1)。このComprehensive Panel v3は効率化されたワークフローであり、AmpliSeq for Illuminaの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)および次世代シーケンス(NGS)テクノロジー、そして自動解析が含まれます。

AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3はわずか1 ngの高品質DNAまたはRNAを必要とし、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織などのさまざまなサンプルタイプにも適合します。多くの遺伝子コンテンツと少量のDNA/RNAインプット量により、1回の効率的なワークフローでがんに関連した遺伝的変異の迅速な評価が可能となり、これにより多くの腫瘍タイプから大量のゲノム情報が明らかになる可能性が高まります。

関連遺伝子のコンテンツ

AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3は、キナーゼおよびDNA修復に関与する遺伝子など161個のがん関連遺伝子をカバーしています。このパネルのコンテンツは、ホットスポット、全長遺伝子、コピー数多型、遺伝子間の融合遺伝子、および遺伝子間の再配列に及びます。経験豊富な科学者たちによってコンテンツの選択が支援され、公表されたエビデンスのある重要なターゲットのカバレッジが保証されています。このパネルを使用することにより、ターゲットの同定、アンプリコンの設計とパフォーマンスの最適化に掛ける時間と労力を減らすことができます。



AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3の全遺伝子リストにアクセスするにはこちらをご覧ください

jp.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-comprehensive-panel.html

表 1: AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3の概要

パラメーター	仕様
遺伝子数	161
ターゲット	ホットスポットおよび全長遺伝子
累積ターゲットサイズ	DNA : 397 kb、RNA : 86 kb
バリエーションタイプ	SNV、Indel、CNVおよび遺伝子融合 ^a
アンプリコンサイズ	DNA : 平均105 bp、RNA : 平均99 bp
アンプリコン数	DNA : 3781、RNA : 867
必要なインプットDNA/RNA量	1~100 ng (プール当たり10 ngを推奨)
パネル当たりのプール数	DNAパネルに対して2プール、RNAパネルに対して2プール
対応サンプル	FFPE 組織、血液
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 (> 0.2×の平均カバレッジをもつターゲット率)	> 95%
オンターゲットアライメントリード率	> 85%
合計アッセイ時間	5~6時間 ^b
ハンズオン時間	< 1.5時間
DNA/RNA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、CNV : コピー数多型 b. 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	

シンプルかつ効率的なワークフロー

AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3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スシステム、および簡便なデータ解析を備えたDNA/RNAバリエーション解析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5時間(DNA)または6時間(RNA)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システムで、実証済みのSBSケミストリーを用い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。Local Run ManagerおよびBaseSpace Sequence Hubは、DNA Amplicon解析ワークフローにアクセスすることでアライメントおよびバリエーションコールを行い、

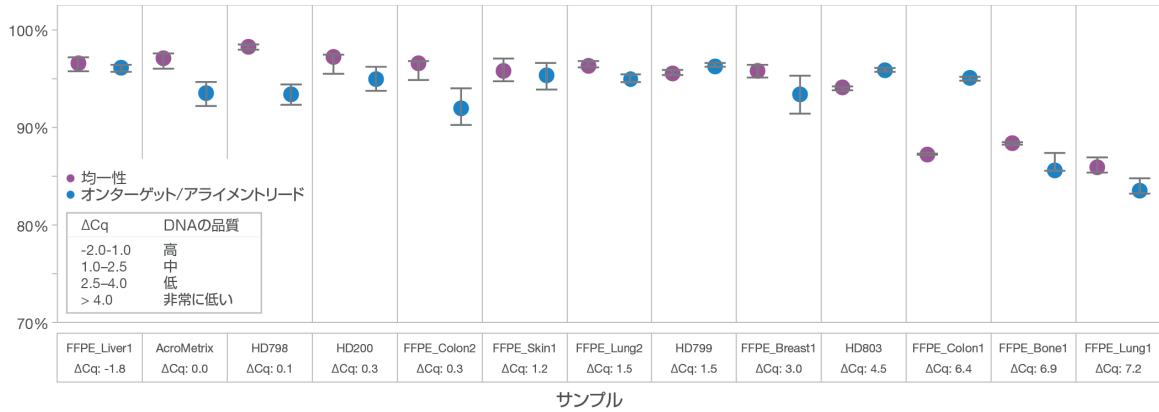


図 1: カバレッジの高い均一性と高いオンターゲットアライメント率—品質の異なるFFPEサンプルおよびHDサンプルから抽出したDNAをAmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3で調製し、NextSeqシステムでシーケンスを行いました。エラーバーは技術的反复のばらつきを示します。ΔCqは、FFPE組織から単離されたDNAの品質を示します。

RNA Amplicon解析ワークフローで融合遺伝子のコールを行います。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データを注釈付きの結果に変換することができます。

[イルミナシーケンサーの詳細はこちら
jp.illumina.com/systems](https://jp.illumina.com/systems)

[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](https://jp.illumina.com/products/by-brand/ampliseq/informatics.html)

表 2: AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3に推奨されるイルミナシーケンサー

装置	ラン当たりのサンプル数 (DNAおよびRNA混合)	ラン時間
MiniSeqシステム (高出力)	3	24時間
MiSeqシステム (v3ケミストリー)	3	32時間
NextSeqシステム (中出力)	16	26時間
NextSeqシステム (高出力)	48	29時間

高精度なデータ

AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3は、サンプル当たり同時に160以上の遺伝子を解析するための能力を備え、優れた特異性と均一性を維持しています。

カバレッジおよび感度

アッセイの性能を示すために、AcroMatrixコントロールサンプル、Horizon Discovery (HD) サンプルおよびFFPEサンプルをComprehensive Panelで調製し、NextSeq™システムでシーケンスを行いました。結果より、サンプルの質と種類が異なっても、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)。質の異なるHDサンプルをバリエーションコールの精度に対して調べました。データより、予測バリエーション頻度と検出バリエーション頻度間での高い一致が示されました (図 2)。

遺伝子融合の検出

このアッセイの性能を示すために、Comprehensive Panelを用いてHDサンプルおよびSeraseq Fusion RNA Mix v2リファレンスを評価し、MiniSeq™ およびMiSeq™システムでシーケンスを行い、RNA転写産物内での構造多型を検出しました。結果より、これらのサンプル内の遺伝子融合に対して100%のコール率が示されました (表 3)。

表 3: 遺伝子融合に対する高いコール率

融合	検出されなかったサンプル数	検出されたサンプル数	コール率
RNAソース : HD784			
CCDC6-RET	0	16	100%
EML4-ALK	0	16	100%
SLC34A2-ROS1	0	16	100%
SLC34A2-ROS1	0	16	100%
RNAソース : Seraseq Fusion RNA Mix v2			
CD74-ROS1	0	16	100%
EGFR-SEPT14	0	16	100%
EML4-ALK	0	16	100%
ETV6-NTRK3	0	16	100%
FGFR3-BAIAP2L1	0	16	100%
FGFR3-TACC3	0	16	100%
KIF5B-RET	0	16	100%
LMNA-NTRK1	0	16	100%
MET-MET	0	16	100%
NCOA4-RET	0	16	100%
PAX8-PPARG	0	16	100%
SLC34A2-ROS1	0	16	100%
SLC45A3-BRAF	0	16	100%
TMPRSS2-ERG	0	16	100%
TPM3-NTRK1	0	16	100%

AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3を用い、融合陽性の2つのRNAサンプル、HD784およびSeraseq Fusion RNA Mix v2のRNAライブラリーを作製し、MiniSeqおよびMiSeqシステムでシーケンスを行いました。

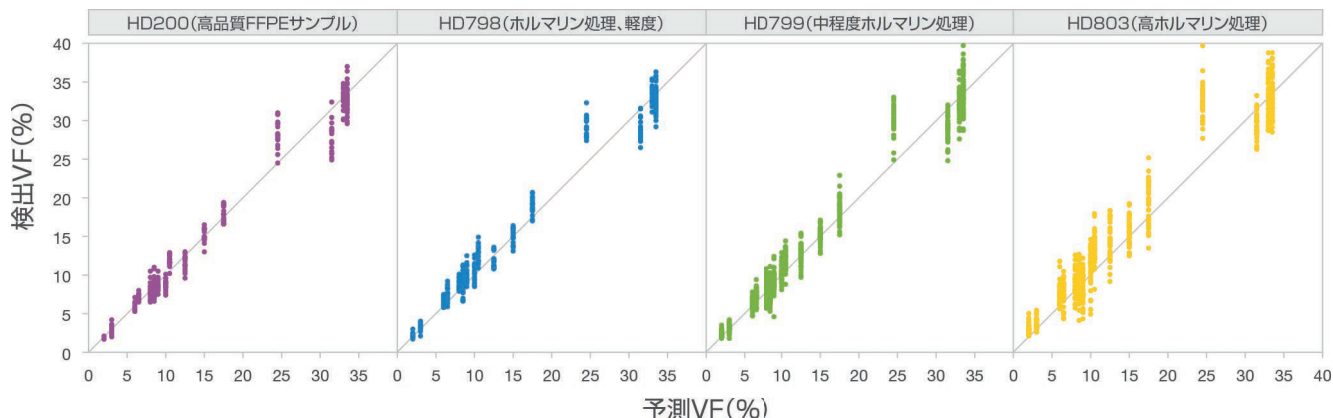


図 2: 予測バリエント頻度と検出バリエント頻度間の高い一致率—ホルマリン固定HDサンプルのDNAはAmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3を用いて調製し、MiniSeqシステムとMiSeqシステムでシーケンスを行いました。結果より、予測SNVの100%を検出したことが示されています。ΔCq値は図 1に示しています。

詳細はこちら

AmpliSeq for Illumina Comprehensive Panel v3に関する詳細はこちら

jp.illumina.com/products/by-type/sequencing-kits/library-prep-kits/ampliseq-comprehensive-panel.html

AmpliSeq for Illuminaターゲットリシーケンスソリューションを詳しく知るために、こちらの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

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 Comprehensive Panel v3	20019109
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

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, CSeq, DASL, Design Studio, GAllx, Genetic Energy, Genome Analyzer, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, 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. 770-2017-028-A-JPN

illumina[®]