

# iSeq™ 100 システムでの AmpliSeq™ for Illumina 腫瘍パネル

がんに関連したターゲットリシーケンスアプリケーションのために、実績のあるアンプリコンケミストリーと業界最先端のシーケンステクノロジーが融合

## 特長

- 非常に利用しやすいシーケンスソリューション**  
 低コストで容易に実行できる NGS システム
- がん研究に関連する遺伝子コンテンツ**  
 専門家に選択され、がんに関心をもちたコンテンツ
- 少ない DNA インプット量で高い解析感度**  
 1 ~ 100 ng のインプット DNA または RNA を使って 5% のアリル頻度の変異を精確に検出
- 容易に実行できる実証済みのワークフロー**  
 短いハンズオンタイムと自動バリエーションコールによる効率的で、包括的なワークフロー

このアプリケーションノートでは、4 つの異なるターゲットリシーケンスパネルを用いた iSeq 100 システムの性能を示しています。各パネルは、実績のあるアンプリコンケミストリーでがん研究の異なる側面に焦点を当てられるようデザインされています：

**AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2** は既に知られている 50 のがん関連遺伝子のホットスポット領域全体における体細胞変異を検出するためにデザインされています。このパネルでは、最小 1 ng の高品質 DNA、またはホルマリン固定・パラフィン包埋 (FFPE) 組織 DNA から、肺がん、大腸がん、乳がん、卵巣がん、メラノーマおよび前立腺がんなどの複数のがんタイプで変異を高感度で検出することが可能です。必要なインプット量が少ないため、貴重なサンプルを使うことが可能になります。

**AmpliSeq for Illumina Focus Panel** は DNA と RNA で同時にバイオマーカー解析をするために開発されました。このパネルは肺がん、大腸がん、乳がん、卵巣がん、メラノーマおよび前立腺がんなどの固形腫瘍に関する 52 の既知遺伝子の変異検出に対して高い解析感度があります。この Focus Panel によって、トランスレーショナル研究や臨床研究のためのゲノム変異について迅速で正確な評価が可能になります。

**AmpliSeq for Illumina BRCA Panel** は DNA シーケンスパネルであり、BRCA1 遺伝子および BRCA2 遺伝子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および生殖細胞系列変異を検出します。

BRCA1 および BRCA2 は腫瘍抑制遺伝子であり、特異的な変異を有している場合、乳がんおよび卵巣がんへのリスクが増加することが示されています<sup>1</sup>。腫瘍内の BRCA 遺伝子の状態を理解することは、潜在的な治療法を研究する際の一つの要素になるかもしれません<sup>2</sup>。

## はじめに

次世代シーケンス (NGS) によって、1 回のアッセイで多くの遺伝子の変異を検出することが可能となり、がん研究が変わってきました。特定の疾患または経路に関連する遺伝子に焦点を当てることによって、ターゲットリシーケンスはより小さな NGS プラットフォーム上での実施が可能となり、更にターゲット遺伝子に対して高いカバレッジを得ることもできます。高いカバレッジがもたらす解析感度の向上は、不均一な腫瘍組織において低頻度の変異を検出するために特に重要になる場合があります。

iSeq 100 システムは小規模な NGS アプリケーションを実行するためにデザインされました。iSeq 100 システムは、ベンチトップでさまざまな種類の実験を迅速に行えるため、小さな研究室に自律性と柔軟性を提供します。このシステムは疾患関連遺伝子に焦点を当てたターゲットリシーケンスアプリケーションによく適しています。

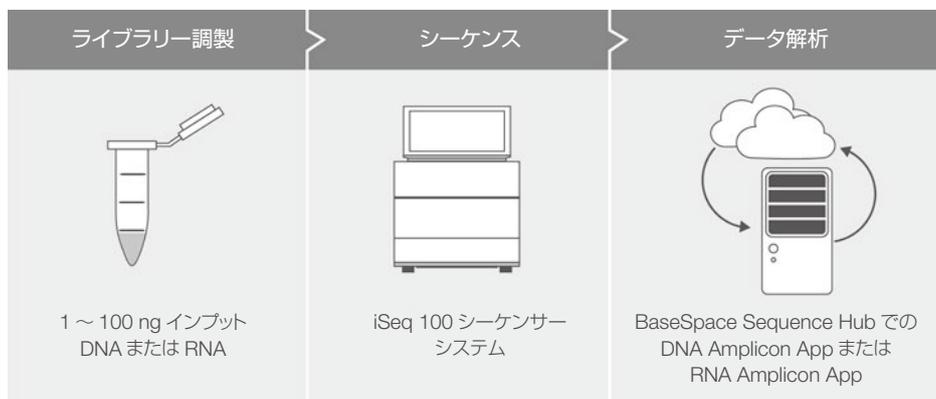


図 1：シンプルな統合ワークフロー イルミナでは、25 時間で DNA/RNA インプットからデータを得ることができる、ライブラリー調製、シーケンスおよび自動データ解析の効率化されたワークフローを用意しています。

**AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel** は、さまざまなリンパ球サブセット、抗原提示、チェックポイント経路および腫瘍増殖に関連するバイオマーカーの検出を行います。この Immune Response Panel は、1 ~ 100 ng のインプット RNA から腫瘍と免疫系の相互作用に関与する 395 の遺伝子を迅速かつ高精度に解析することができ、新しい免疫療法の開発に利用できるバイオマーカーの評価が可能です。

## 高効率なオペレーション

統合ワークフロー (図 1) は、AmpliSeq for Illumina の PCR ベースのライブラリー調製、イルミナの塩基合成 (SBS) NGS テクノロジーおよび BaseSpace™ Sequence Hub または Local Run Manager による自動解析を含んでいます。

AmpliSeq for Illumina パネルは、少ないサンプルインプット量から高品質で高精度のデータを得られるように最適化されています。ライブラリー調製に必要なハンズオンタイムは 1.5 時間以下で、効率的で包括的なアッセイを提供します。このアッセイは、最小 1 ng のインプット核酸量からターゲットした遺伝子の高いカバレッジを得るためにデザインされています。必要となるインプット量が少なく、同時に数百の遺伝子を解析できる能力を兼ね備えているため、限られたサンプルを使用する研究室にとっては非常に大きな利点になります。

## 簡便で包括的なワークフロー

AmpliSeq for Illumina ワークフローは包括的であり、研究室でのオペレーションに容易に統合することができるため、DNA または RNA からデータ作成まではおおよそ 25 時間で完了します (図 1)。AmpliSeq for Illumina の PCR ベースのライブラリー調製は 5 時間以下で完了します。ライブラリー調製の後で行う iSeq 100 システムによるシーケンスは高度に自動化されており、フローセルにサンプルをロードしてランを開始するために必要なハンズオンタイムは約 5 分です。データは、Local Run Manager ソフトウェアを使って装置上で解析することも、BaseSpace Sequence Hub に自動的に送信し、DNA Amplicon App や RNA Amplicon App を使ってさらに進んだ解析を行うこともできます。

表 1 : iSeq 100 システム、MiniSeq システムおよび MiSeq システム間での DNA 解析の再現性

AmpliSeq Panel	システム	SNV 精度	SNV リコール	均一性	特異性	オンターゲット率 ターゲット/ アライン率	平均カバレッジ
Cancer Hotspot v2	iSeq 100	1.0000 +/-0	1.0000 +/-0	100 +/-0	93.5 +/-0.5	84.7 +/-0.7	3230
	MiniSeq	1.0000	1.0000	99.0	94.4	85.4	13950
	MiSeq	0.9861	1.0000	100	94.7	85.9	7190
Focus	iSeq 100	1.0000 +/-0	0.9458 +/-0.017	99.3 +/-0.2	89.5 +/-0.7	81.5 +/-0.9	1640
	MiniSeq	0.9286	1.0000	98.9	91.5	83.1	7120
	MiSeq	0.9400	1.0000	99.0	91.8	83.6	2890
BRCA	iSeq 100	1.0000 +/-0	0.9002 +/-0.013	100 +/-0	92.2 +/-0.2	81.3 +/-0.3	5500
	MiniSeq	0.8910	1.0000	100	92.8	81.9	22900
	MiSeq	0.8910	1.0000	100	93.1	82.3	9860

MiniSeq システムおよび MiSeq システムで 1 つのレプリケートを解析しました。その後、iSeq 100 システムで同じサンプルを複数のレプリケートから解析を行い、+/- 値を使ってレプリケート間の標準偏差を示しました (Cancer Hotspot v2 は n = 6、Focus は n = 3、BRCA は n = 3)。

オンターゲット率は、シーケンサーによって出力される総塩基数に対するターゲット領域内の塩基数の割合です。

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。

## 再現性

iSeq 100 システムは NGS を手ごろな価格で提供できるようにデザインされましたが、信頼性の高いリパントコールのために推奨されるカバレッジ深度も提供します (平均カバレッジ ≥ 500)。iSeq 100 システムにおける AmpliSeq ケミストリーの性能の高さを示すために、AmpliSeq for Illumina 腫瘍 DNA パネルのそれぞれに対して、iSeq 100 システム、MiniSeq™ システムおよび MiSeq™ システムで同じ DNA サンプルを解析しました (表 1)。AmpliSeq for Illumina Immune Response アッセイを使った遺伝子発現解析について、サンプル間の再現性は RNA Amplicon App によって実施したリードカウントの比較で示しました (図 2)。

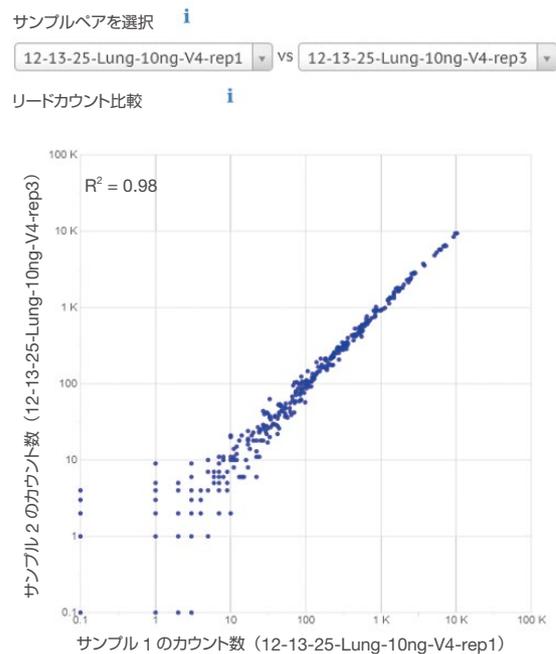


図 2 : AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel による再現性  
遺伝子発現の再現性は BaseSpace Sequence Hub で RNA Amplicon App を使って確認しました。同じ肺腫瘍サンプルの 2 つのレプリケートのリードカウントの比較を示しています。

## 信頼性のある、高精度な性能

ターゲットリシーケンスの高いカバレッジと iSeq 100 システムの性能とを組み合わせることで、精度の高い変異検出のための信頼性の高いがん研究が実現します。AmpliSeq ケミストリーを使用した関連ターゲットの濃縮、その後のイルミナシーケンスケミストリーで、5% のレベルまでのバリエーションをバックグラウンドのノイズと区別できる真の変異として検出できます (図 3)。

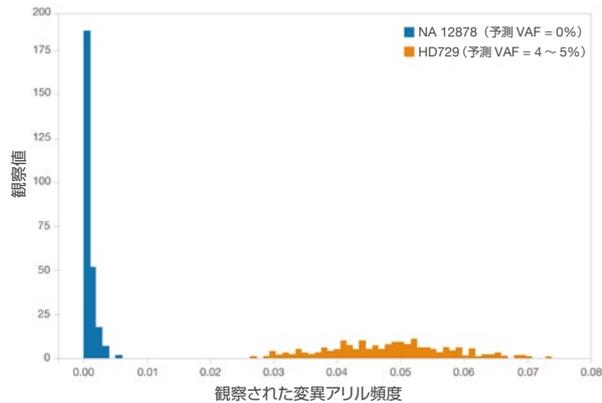


図 3：低頻度変異の DNA とブランク DNA に対して観察される変異頻度の分布  
予測変異アリル頻度 (VAF) が 4 ~ 5% の 9 個の一塩基変異のある標準 DNA (HD729) を AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel v2 で解析しました。HD729 DNA と、これらの変異がないブランク DNA (NA12877) を用いて、異なる頻度で検出された変異数を示しています。各変異に対して 48 の観察値があり、半分は NA12877 から、もう半分は HD729 からの観察値です。各標準 DNA は、12 のレプリケートごとに 2 回のランを使ってシーケンスしました。

## 分かりやすい解析およびレポーティング

オプションとして、イルミナのゲノムコンピュティング環境である BaseSpace Sequence Hub にイルミナシーケンスシステムを接続して、シーケンスデータの解析および管理を行うことができます。研究者はシーケンスデータを安全に保管、解析、アーカイブ化、並びに共有することができます。DNA Amplicon App および RNA Amplicon App は、バリエーションコール、差次的発現解析またはサンプル比較など、ボタンをクリックしてさまざまな解析を行うためにデザインされています (図 2)。生データの出力は分かりやすい、まとまったレポートとともに提供されます。

## まとめ

イルミナ SBS ケミストリーおよび AmpliSeq for Illumina 腫瘍パネルと、iSeq 100 システムで専門家によって定義されたコンテンツに柔軟で手ごろにアクセスでき、ゲノムとトランスクリプトームにおけるがん関連のターゲットを包括的に検証できるようになります。最適化されたアンプリコンセットは、がん研究のさまざまな分野で変異が多いことが知られている領域を包括的にカバーします。AmpliSeq for Illumina パネルにより、一回のアッセイで数百の遺伝子を解析できます。これらの NGS ベースのソリューションは iSeq 100 システムと組み合わせることにより、小さな独立した研究室が非常に入手しやすくなっています。

## 詳細はこちらから

iSeq 100 システムに関する詳細はこちらをご覧ください。

[jp.illumina.com/systems/sequencing-platforms/iseq.html](http://jp.illumina.com/systems/sequencing-platforms/iseq.html)

AmpliSeq for Illumina シーケンスパネルに関する詳細は[こちら](#)をご覧ください。

## 製品情報

システムおよび試薬キット名	カタログ番号
iSeq 100 シーケンサーシステム	20021532
iSeq 100 E1 Reagent	20021533
iSeq 100 E1 Reagent 4 Pack	20021534
ライブラリー調製	カタログ番号
AmpliSeq for Illumina Cancer Hotspot Panel	20019161
AmpliSeq for Illumina Focus Panel	20019164
AmpliSeq for Illumina BRCA Panel	20019168
AmpliSeq for Illumina Immune Response Panel	20019169
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

## 参考文献

1. *BRCA1* and *BRCA2*: Cancer Risk and Genetic Testing Fact Sheet - National Cancer Institute. [www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics/brca-fact-sheet#q1](http://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics/brca-fact-sheet#q1). Accessed November 29, 2017.
2. Approved Drugs > FDA approves olaparib tablets for maintenance treatment in ovarian cancer. [www.fda.gov/drugs/informationondrugs/approveddrugs/ucm572143.htm](http://www.fda.gov/drugs/informationondrugs/approveddrugs/ucm572143.htm). Accessed January 12, 2018.

## 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](http://jp.illumina.com)

 [www.facebook.com/illuminakk](https://www.facebook.com/illuminakk)

販売店

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](http://jp.illumina.com/tc)

© 2018 Illumina, Inc. All rights reserved.

すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc または各所有者に帰属します。  
商標および登録商標の詳細は [jp.illumina.com/company/legal.html](http://jp.illumina.com/company/legal.html) をご覧ください。  
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. 770-2017-035-A-JPN 07JUN2018

**illumina**<sup>®</sup>