

TruSight™ Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput

柔軟性と拡張性の高い、FFPE サンプルからの包括的なゲノムプロファイリングの実現

特長

- **統合されたアッセイ**
DNA と RNA の両方から、523 種の遺伝子に含まれる複数の腫瘍バリエントタイプを 1 回のアッセイで解析でき、時間とサンプルを節約
- **包括的なコンテンツ**
ガイドラインおよび臨床試験で識別される現行および最新のバイオマーカーをカバー
- **実証された信頼性のある結果**
厳しい性能仕様を満たしたアッセイを使用して、正確なデータを産出
- **付加価値のある国内ソリューション提供**
国内の施設やコミュニティと緊密に連携しながら、サンプル保管やデータ取得が可能

はじめに

最近の大規模コホート研究により、包括的なゲノムプロファイリングを実施することで、サンプルの最大 90% から有用な遺伝子変異を特定し得ることが明らかになっています。¹⁻⁶ 包括的なアッセイを 1 回だけ実行して、幅広い種類のバイオマーカーを評価できれば、試験を何度も繰り返す場合よりもサンプル数の低減につながり、より迅速に結果が得られます。イルミナが提供する TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput は、使用できる組織サンプルや時間に限りのある研究者の取り組みを支援します (表 1)。実績のあるサンプル技術、有用なバイオマーカーコンテンツ、そして複数の製薬企業との提携関係により、これらのアッセイは、これからの腫瘍プロファイリング診断用アッセイ開発の基盤となると位置付けられます。

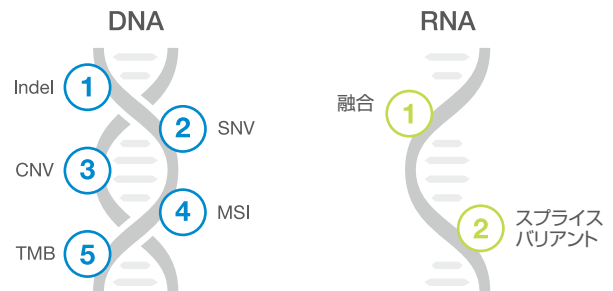


図 1: TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput によって検出されるバリエントタイプ

単一のワークフローで複数のがんタイプやバイオマーカーを解析

TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput は、統合された単一のワークフローで DNA および RNA から 523 種のがん関連遺伝子を解析する、次世代シーケンシングアッセイです (表 2)。これらのアッセイでは DNA および RNA の複数のバリエントタイプを同時に評価できるため (図 1)、貴重な組織サンプルと時間を同一試験の繰り返しの必要がなくなります。

表 1: TruSight Oncology 500 と TruSight Oncology 500 High-Throughput の比較

パラメーター	TruSight Oncology 500	TruSight Oncology 500 High-Throughput
システム	NextSeq 500、NextSeq 500 または NextSeq 550Dx システム (RUO モード)	NovaSeq 6000 システム
パネルサイズ	1.94 Mb DNA、358 kb RNA	1.94 Mb DNA、358 kb RNA
DNA インプット必要量	40 ng	40 ng
RNA インプット必要量	40 ng	40 ~ 80 ng
FFPE インプット必要量	FFPE 組織サンプルから 2 mm ³ 以上を推奨	FFPE 組織サンプルから 2 mm ³ 以上を推奨
合計アッセイ時間	核酸からバリエントレポートまで 4 ~ 5 日間	核酸からバリエントレポートまで 4 ~ 5 日間
シーケンスランタイム	24 時間	19 時間 (SP、S1)、25 時間 (S2)、36 時間 (S4)
シーケンスラン	2 × 101 サイクル	2 × 101 サイクル
サンプルスループット	1 ランあたり 8 サンプル	1 ランあたり 16 ~ 192 サンプル
検出限界	Small variants では 5% VAF 融合では RNA インプット ng あたり 5 コピー CNV では倍率変化 2.2x	Small variants では 5% VAF 融合では RNA インプット ng あたり 5 コピー (80 ng インプット) CNV では倍率変化 2.2x
解析感度	> 96% (5% VAF でのすべてのバリエントに対して)	> 96% (5% VAF でのすべてのバリエントに対して)
解析特異度	99.9998%	99.9998%

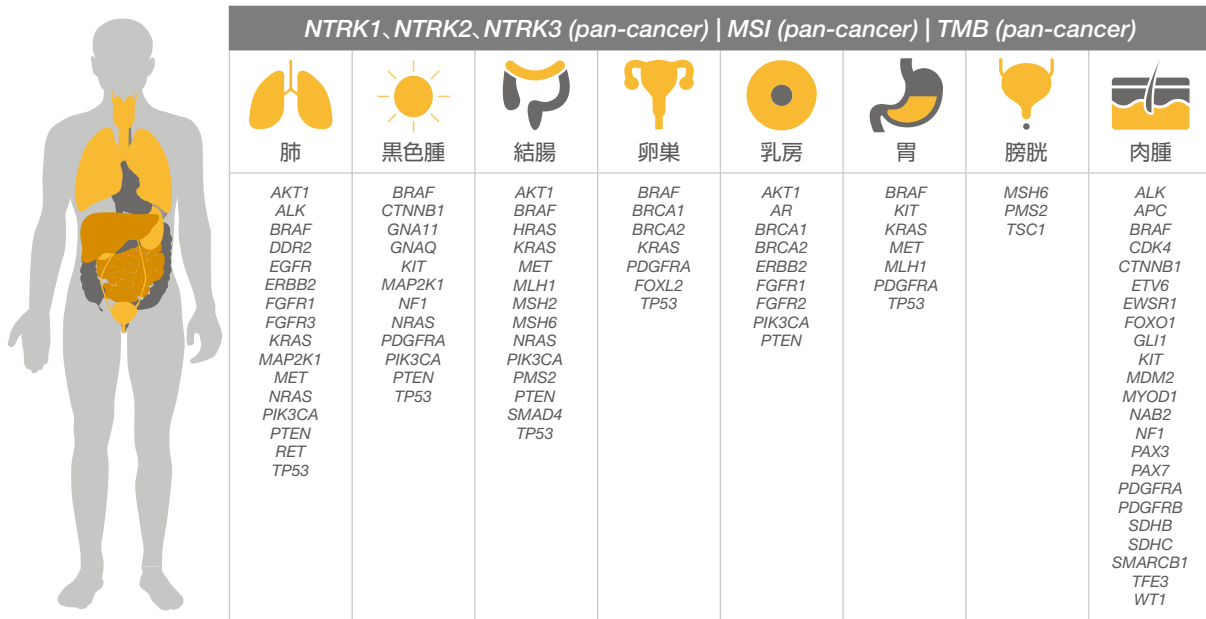


図 2：複数のがんタイプに対するゲノム腫瘍プロファイリングバイオマーカー。TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput のコンテンツには、複数のがんタイプに対する主要なガイドラインにあるバイオマーカーと腫瘍横断型バイオマーカーが含まれます (MSI、NTRK1、NTRK2、NTRK3、TMB など)。

表 2：同一サンプルの DNA および RNA を使用した、複数の肺がんバイオマーカーの同時解析

	DNA コンテンツ	RNA コンテンツ
バイオマーカー		
MSI	✓	
TMB	✓	
バイオマーカー遺伝子	Small Variants	融合
AKT1	✓	
ALK	✓	✓
BRAF	✓	✓
DDR2	✓	
EGFR	✓	✓
ERBB2	✓	✓
FGFR1	✓	✓
FGFR3	✓	✓
KRAS	✓	
MAP2K1	✓	
MET	✓	✓
NRAS	✓	
NTRK1	✓	✓
NTRK2	✓	✓
NTRK3	✓	✓
PIK3CA	✓	✓
PTEN	✓	
RET	✓	✓
TP53	✓	

コンテンツの包括的な設計

イルミナは権威ある腫瘍コミュニティと提携して、TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput パネルのコンテンツを設計しました。パネルは、複数の腫瘍タイプに共通する変異遺伝子を網羅しています (図 2)。また、523 遺伝子における一塩基変異 (SNV)、挿入や欠失 (Indel)、コピー数多型 (CNV) の解析、55 遺伝子における既知および新規遺伝子とスプライスバリエーションを評価します (表 3、表 4)。さらに TruSight Oncology 500 パネルには、主要な免疫療法治療バイオマーカーであり、奏効に相関することが知られているマイクロサテライト不安定性 (MSI) や、^{7,8} 新たに注目されている腫瘍変異負荷 (TMB) も含まれます。

パネルのコンテンツは、複数のがんタイプについての主要なガイドラインを十分に網羅した、最新のガイドラインに記載された遺伝子 (図 3)、および 1,000 件以上の臨床試験に関与した遺伝子で構成されます。

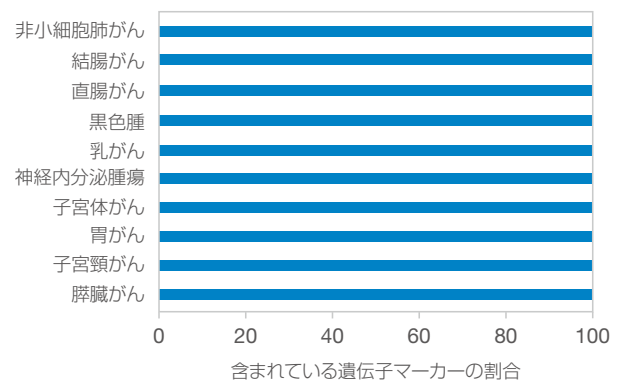


図 3：主要ガイドラインに適合する、腫瘍タイプ別の TruSight Oncology 500 コンテンツ：グラフはコンテンツの適合性を示す一例を表すもので、すべてを表示しているわけではありません。

表3：TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput パネルに含まれる DNA コンテンツ

ABL1	BRD4	CUX1	FAM175A	GATA6	IGF1	MAP3K13	NOTCH4	POLE	RPTOR	TAF1
ABL2	BRIP1	CXCR4	FAM46C	GEN1	IGF1R	MAP3K14	NPM1	PPARG	RUNX1	TBX3
ACVR1	BTG1	CYLD	FANCA	GID4	IGF2	MAP3K4	NRAS	PPM1D	RUNX1T1	TCEB1
ACVR1B	BTK	DAXX	FANCC	GLI1	IKBKE	MAPK1	NRG1	PPP2R1A	RYBP	TCF3
AKT1	C11orf30	DCUN1D1	FANCD2	GNA11	IKZF1	MAPK3	NSD1	PPP2R2A	SDHA	TCF7L2
AKT2	CALR	DDR2	FANCE	GNA13	IL10	MAX	NTRK1	PPP6C	SDHAF2	TERC
AKT3	CARD11	DDX41	FANCF	GNAQ	IL7R	MCL1	NTRK2	PRDM1	SDHB	TERT
ALK	CASP8	DHX15	FANCG	GNAS	INHBA	MDC1	NTRK3	PREX2	SDHC	TET1
ALOX12B	CBFB	DICER1	FANCI	GPR124	INHBA	MDM2	NUP93	PRKAR1A	SDHD	TET2
ANKRD11	CBL	DIS3	FANCL	GPS2	INPP4A	MDM4	NUTM1	PRKCI	SETBP1	TFE3
ANKRD26	CCND1	DNAJB1	FAS	GREM1	INPP4B	MED12	PAK1	PRKDC	SETD2	TFRC
APC	CCND2	DNMT1	FAT1	GRIN2A	INSR	MEF2B	PAK3	PRSS8	SF3B1	TGFBR1
AR	CCND3	DNMT3A	FBXW7	GRM3	IRF2	MEN1	PAK7	PTCH1	SH2B3	TGFBR2
ARAF	CCNE1	DNMT3B	FGF1	GSK3B	IRF4	MET	PALB2	PTEN	SH2D1A	TMEM127
ARFRP1	CD274	DOT1L	FGF10	H3F3A	IRS1	MGA	PARK2	PTPN11	SHQ1	TMPRSS2
ARID1A	CD276	E2F3	FGF14	H3F3B	IRS2	MITF	PARP1	PTPRD	SLIT2	TNFAIP3
ARID1B	CD74	EED	FGF19	H3F3C	JAK1	MLH1	PAX3	PTPRS	SLX4	TNFRSF14
ARID2	CD79A	EGFL7	FGF2	HGF	JAK2	MLL	PAX5	PTPRT	SMAD2	TOP1
ARID5B	CD79B	EGFR	FGF23	HIST1H1C	JAK3	MLL2	PAX7	QKI	SMAD3	TOP2A
ASXL1	CDC73	EIF1AX	FGF3	HIST1H2BD	JUN	MPL	PAX8	RAB35	SMAD4	TP53
ASXL2	CDH1	EIF4A2	FGF4	HIST1H3A	KAT6A	MRE11A	PBRM1	RAC1	SMARCA4	TP63
ATM	CDK12	EIF4E	FGF5	HIST1H3B	KDM5A	MSH2	PDCD1	RAD21	SMARCB1	TRAF2
ATR	CDK4	EML4	FGF6	HIST1H3C	KDM5C	MSH3	PDCD1LG2	RAD50	SMARCD1	TRAF7
ATRX	CDK6	EP300	FGF7	HIST1H3D	KDM6A	MSH6	PDGFRA	RAD51	SMC1A	TSC1
AURKA	CDK8	EPCAM	FGF8	HIST1H3E	KDR	MST1	PDGFRB	RAD51B	SMC3	TSC2
AURKB	CDKN1A	EPHA3	FGF9	HIST1H3F	KEAP1	MST1R	PDK1	RAD51C	SMO	TSHR
AXIN1	CDKN1B	EPHA5	FGFR1	HIST1H3G	KEL	MTOR	PDPK1	RAD51D	SNCAIP	U2AF1
AXIN2	CDKN2A	EPHA7	FGFR2	HIST1H3H	KIF5B	MUTYH	PGR	RAD52	SOCS1	VEGFA
AXL	CDKN2B	EPHB1	FGFR3	HIST1H3I	KIT	MYB	PHF6	RAD54L	SOX10	VHL
B2M	CDKN2C	ERBB2	FGFR4	HIST1H3J	KLF4	MYC	PHOX2B	RAF1	SOX17	VTCN1
BAP1	CEBPA	ERBB3	FH	HIST2H3A	KLHL6	MYCL1	PIK3C2B	RANBP2	SOX2	WISP3
BARD1	CENPA	ERBB4	FLCN	HIST2H3C	KMT2B	MYCN	PIK3C2G	RARA	SOX9	WT1
BBC3	CHD2	ERCC1	FLI1	HIST2H3D	KMT2C	MYD88	PIK3C3	RASA1	SPEN	XIAP
BCL10	CHD4	ERCC2	FLT1	HIST3H3	KMT2D	MYO10	PIK3CA	RB1	SPOP	XPO1
BCL2	CHEK1	ERCC3	FLT3	HLA-A	KRAS	NAB2	PIK3CB	RBM10	SPTA1	XRCC2
BCL2L1	CHEK2	ERCC4	FLT4	HLA-B	LAMP1	NBN	PIK3CD	RECQL4	SRC	YAP1
BCL2L11	CIC	ERCC5	FOXA1	HLA-C	LATS1	NCOA3	PIK3CG	REL	SRSF2	YES1
BCL2L2	CREBBP	ERG	FOXL2	HNF1A	LATS2	NCOR1	PIK3R1	RET	STAG1	ZBTB2
BCL6	CRKL	ERRF1	FOXO1	HNRNPK	LMO1	NEGR1	PIK3R2	RFWD2	STAG2	ZBTB7A
BCOR	CRLF2	ESR1	FOXP1	HOXB13	LRP1B	NF1	PIK3R3	RHEB	STAT3	ZFHX3
BCORL1	CSF1R	ETS1	FRS2	HRAS	LYN	NF2	PIM1	RHOA	STAT4	ZNF217
BCR	CSF3R	ETV1	FUBP1	HSD3B1	LZTR1	NFE2L2	PLCG2	RICTOR	STAT5A	ZNF703
BIRC3	CSNK1A1	ETV4	FYN	HSP90AA1	MAGI2	NFKBIA	PLK2	RIT1	STAT5B	ZRSR2
BLM	CTCF	ETV5	GABRA6	ICOSLG	MALT1	NKX2-1	PMAIP1	RNF43	STK11	
BMPR1A	CTLA4	ETV6	GATA1	ID3	MAP2K1	NKX3-1	PMS1	ROS1	STK40	
BRAF	CTNNA1	EWSR1	GATA2	IDH1	MAP2K2	NOTCH1	PMS2	RPS6KA4	SUFU	
BRCA1	CTNNB1	EZH2	GATA3	IDH2	MAP2K4	NOTCH2	PNRC1	RPS6KB1	SUZ12	
BRCA2	CUL3	FAM123B	GATA4	IFNGR1	MAP3K1	NOTCH3	POLD1	RPS6KB2	SYK	

表内のグレー部分は CNV 検出用に解析されます。

表 4 : TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput パネルに含まれる RNA コンテンツ

ABL1	BCL2	CSF1R	ESR1	EWSR1	FLI1	KIF5B	MSH2	NRG1	PAX7	RAF1
AKT3	BRAF	EGFR	ETS1	FGFR1	FLT1	KIT	MYC	NTRK1	PDGFRA	RET
ALK	BRCA1	EML4	ETV1	FGFR2	FLT3	MET	NOTCH1	NTRK2	PDGFRB	ROS1
AR	BRCA2	ERBB2	ETV4	FGFR3	JAK2	MLL	NOTCH2	NTRK3	PIK3CA	RPS6KB1
AXL	CDK4	ERG	ETV5	FGFR4	KDR	MLL2	NOTCH3	PAX3	PPARG	TMPRSS2

表内すべての遺伝子は、既知および新規の融合に対して評価されます。また、グレーのコンテンツはスプライスバリエーションに対して解析されます。

統合されたワークフロー

イルミナと PierianDx が提供する核酸抽出からアノテーションレポートまでの包括的、Tumor-only ワークフローソリューションは、TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput も対象になっています (図 4)。ワークフロー全体は、最短 4 日で完了します。自動化プロトコールを使用した場合は、操作時間が約 50% 低減すると見込まれます。

DNA または RNA による開始

TruSight Oncology 500 アッセイは、同一のサンプルから抽出された RNA または DNA をインプット材料として使用できます。DNA を使用する場合は、ゲノム DNA (gDNA) の断片化からサンプル調製を開始します。RNA を使用して開始する場合は、まずサンプルを cDNA に逆転写します。断片化した gDNA および cDNA は、シーケンス可能なライブラリーに同時変換されます。

タグの追加による高い解析特異度の実現

ライブラリー調製時に、低頻度バリエーションの識別を可能にする分子バーコード (UMI) ¹⁰ が gDNA または cDNA 断片に追加されます。これらの UMI により、バリエーションアルレル頻度 (VAF) の低いバリエーションも検出できるだけでなく、エラーの発生も抑制されるので、高い解析特異度が得られます。

ライブラリーの濃縮による効率性の向上

ライブラリー調製は、実績のあるハイブリッドキャプチャーミストリーに基づいて行われます。このプロセスではビオチン標識プローブおよびストレプトアビジンのコーティングされた磁気ビーズを用いて、DNA ベースおよび RNA ベースのライブラリーから選択されたターゲットを精製します。対象領域がビオチン標識プローブにハイブリダイズされ、磁気的にプルダウンされ、ライブラリープールを濃縮するために溶出されます。ハイブリダイゼーションベースの濃縮は、提供されたサンプル内の特定の遺伝子バリエーションを解析するための有益な手法です。これにより、堅牢で明瞭なワークフローを使用して、エクソームまたは大量の遺伝子 (たとえば 50 種以上) を確実にシーケンスできます。この手法では、幅広いインプットタイプおよびインプット量に対し、信頼性の高い結果が得られます。

ハイブリッドキャプチャーミストリーは、アーチファクトと脱落を低減したデータを産出できるなど、アンプリコンシーケンスに勝るいくつかの利点を提供します。さらに、ハイブリッドキャプチャーミストリーは融合相手に依存しないため、既知および新規の融合遺伝子を検出して特徴付けることができます。

8 ~ 192 サンプルのシーケンス

TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput はいずれも、同一のサンプルおよびライブラリー調製ワークフローに従います。この 2 つのアッセイの大きな違いは、その規模です。TruSight Oncology 500 は NextSeq™ 550 または NextSeq 550Dx^a システム上で実行され、一度に最大 8 サンプルをバッチ処理できます。一方、TruSight Oncology 500 High-Throughput アッセイは拡張性が高く、より多くのサンプルスループットを実現できます。NovaSeq™ 6000 システム上で実行すると、16 ~ 192 サンプルのバッチ処理が可能です。この柔軟性を可能にするのは、TruSight Oncology 500 High-Throughput で使用できる 192 の UMI インデックスと、さまざまなスループットレベルに対応する NovaSeq フローセルです (表 5)。個々のサンプルインデックスは一貫した性能を発揮し、期待される品質管理 (QC) レベルを超えるシーケンス指標を生成します。

表 5 : 拡張性の高いソリューション

アッセイ	TruSight Oncology 500	TruSight Oncology 500 High-Throughput			
	NextSeq 550 または NextSeq 550Dx ^a システム	SP	S1	S2	S4
システム	NextSeq 550 または NextSeq 550Dx ^a システム	NovaSeq 6000 システム			
フローセル	High-output	SP	S1	S2	S4
サンプル数	8	16	32	72	192

a. NextSeq 550Dx システムの RUO モード

データの解析

TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput のバリエーションコールには、5 つの高度な独自のアルゴリズムが使用され、これによってエラー、アーチファクト、

* NextSeq 550Dx システムの RUO モード



図 4 : TruSight Oncology 500 ワークフロー : どちらの TruSight Oncology 500 アッセイもラボの既存のワークフローに統合でき、核酸からバリエーションコールまで 4 ~ 5 日間で完了します。Local Run Manager (LRM) は TruSight Oncology 500 のみに使用できます。

生殖細胞系列バリエーションが除去されます。この結果、解析特異度が 99.9998% となる、きわめて正確なバリエーションコーリング性能を得ることができます。この特異度レベルは、腫瘍のみのワークフローによる TMB 評価など、Mb あたりの正確な変異数を確認することが重要となる場合に特に有効です。

また、解釈とレポート作成の目的で、バリエーションレポートファイルをシーケンスシステムから PierianDx Clinical Genomics Workspace (CGW) クラウドに直接アップロードできます。CGW では解釈とレポート作成がスムーズに行われるように、バリエーションアノテーションとフィルタリングを実行します。PierianDx CGW は、遺伝子に含まれる何千ものバリエーションから最終的に自動出力されるカスタマイズ可能なゲノムレポートにおいて、生物学的に関連のあるバリエーションをフィルタリングして優先順位を付けます。

実証された信頼性のある結果

TruSight Oncology 500 と TruSight Oncology 500 High-Throughput は、それぞれ別のシーケンスプラットフォーム上でのランを想定して設計され、スループットオプションも異なりますが、どちらのアッセイも同じゲノムコンテンツを備え、バリエーションコールに期待される性能も同等です。両アッセイは、MSI、TMB、CNV、Small variants、および融合遺伝子の検出において高い一致率を示します。

TMB および MSI の正確な評価

TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput は MSI と TMB の調査に最適であり、これは複数のゲノム座位の解析に依存します。

MSI は従来、PCR (MSI-PCR) および免疫組織化学によって解析されてきました。他の手法では定性的結果を提供し、サンプルを「MSI 安定性 (MSI-stable)」または「MSI 高不安定性 (MSI-high)」と判定しますが、NGS ベースの TruSight Oncology 500 アッセイでは、130 のホモポリマー MSI マーカー座位を調査し、MSI ステータスの正確な定量的スコアを計算します (図 5)。⁹

低い変異レベルで、正確で再現性の高い TMB 値を得ることは、小型パネルでは困難な場合もあります。TruSight Oncology 500 パネルでは、包括的なゲノムコンテンツを高度なインフォマティクスアルゴリズムと組み合わせ、全エクソーム解析と高度に一致する、正確な TMB 評価を実現します (図 6、表 6)。⁹ また、ライブラリー調製時に UMI が追加され、イルミナ独自のインフォマティクスが採用されていることで、シーケンスエラー率が 10 ~ 20 倍も減少します。¹⁰ FFPE のアーチファクト (脱アミノ反応、酸化など) を取り除くことによって、低品質 DNA サンプルから、わずか 5% の VAF まで検出する高感度解析が可能になります。

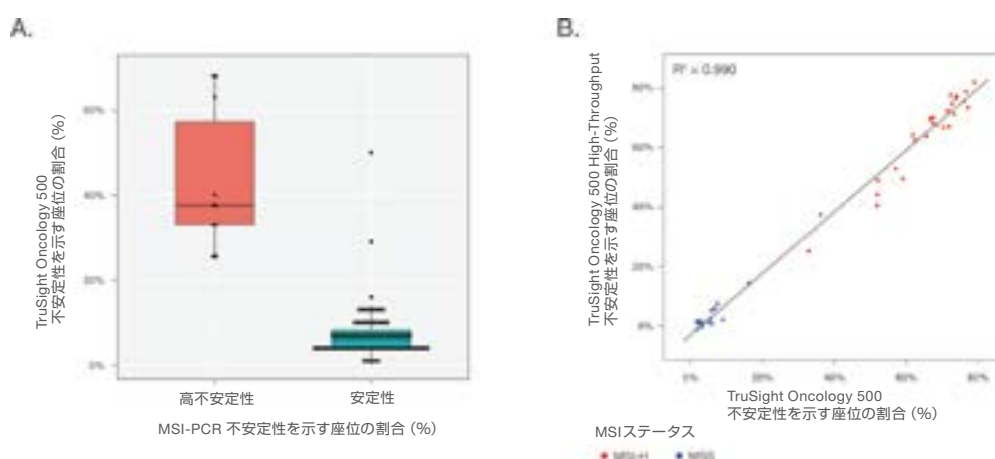


図 5：MSI ステータスの正確な評価：(A) MSI-PCR を使用した場合の定性的スコアと比較し (x 軸)、TruSight Oncology 500 を使用して解析した FFPE 組織サンプルでは定量的スコア (y 軸) が生成されます。(B) TruSight Oncology 500 と TruSight Oncology 500 High-Throughput による MSI 解析の高度な一致率。

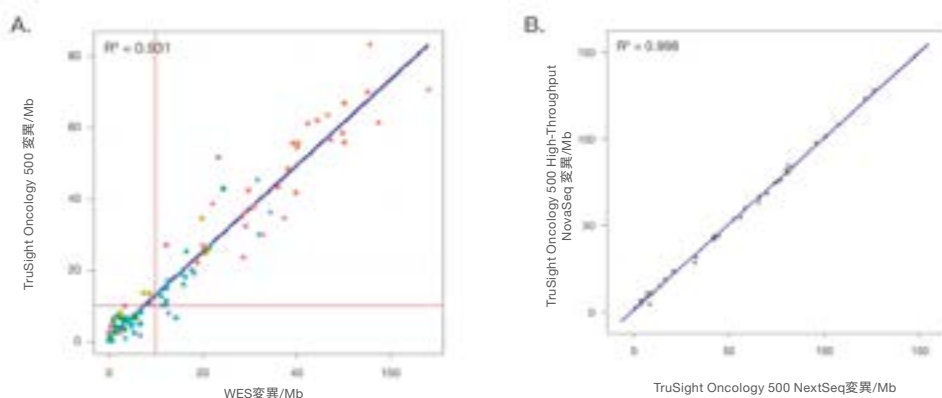


図 6：TMB ステータスの正確な評価：(A) 108 の FFPE 組織サンプルの解析による、WES と TruSight Oncology 500 を使用した TMB 測定値の高度な一致率を示します。赤い線は閾値 (10 変異/Mb) を表します。(B) TruSight Oncology 500 と TruSight Oncology 500 High-Throughput による TMB 解析の高度な一致率。

表 6 : 10 変異 /Mb での WES と TruSight Oncology 500 TMB 分類との高い一致率

指標	値
陽性一致率	94.7%
陰性一致率	96.1%
全体一致率	95.4%

108 の FFPE 組織サンプルから抽出した TMB 値に基づきます。一致率は TMB-H (高) または TMB-L (低) に分類され、10 変異 /Mb を閾値とします。

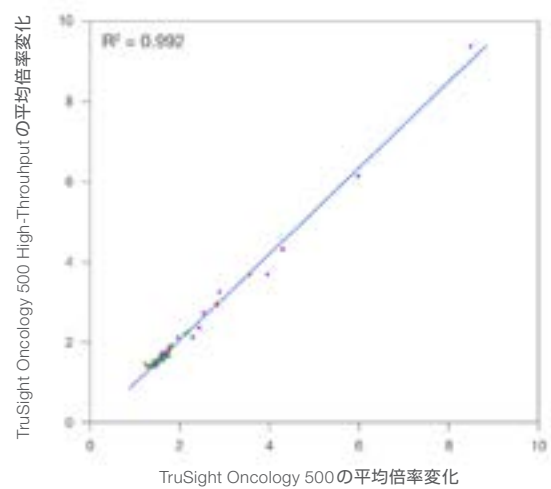
CNV の高感度検出

いくつかの遺伝子およびがんタイプにおいて、コピー数の変化は腫瘍形成と関連性があると考えられます。¹¹ どちらの TruSight Oncology 500 アッセイにも、59 種の CNV 関連遺伝子の解析が含まれ、検出限界が倍率変化 2.2 × となる感度で増幅を検出できます (図 7、表 7)。

表 7 : CNV の高感度検出

遺伝子	検出	倍率変化		組織
		TruSight Oncology 500	TruSight Oncology 500 High-Throughput	
ERBB2	✓	23.43	23.37	乳房
MDM2	✓	8.50	9.34	肺
EGFR	✓	6.00	6.12	肺
EGFR	✓	4.32	4.31	肺
MET	✓	3.98	3.68	肺
MYC	✓	3.59	3.67	乳房
ERBB2	✓	2.86	2.91	乳房
BRAF	✓	2.31	2.12	肺
MYC	✓	2.22	2.24	結腸
CCND1	✓	2.15	2.20	皮膚
KRAS	✓	1.82	1.86	乳房
MDM4	✓	1.80	1.77	乳房
CCNE1	✓	1.76	1.79	肺
FGF19	✓	1.73	1.74	皮膚
AR	✓	1.72	1.68	結腸
MET	✓	1.69	1.62	結腸
KRAS	✓	1.64	1.73	肺
MYCN	✓	1.63	1.66	結腸
CDK6	✓	1.62	1.60	結腸
CHEK2	✓	1.58	1.54	肺
FGF10	✓	1.54	1.51	肺
BRCA2	✓	1.53	1.53	乳房
FGF7	✓	1.49	1.50	結腸
FGFR1	✓	1.39	1.38	結腸

注意：この表内に示すデータは、TruSight Oncology 500 と TruSight Oncology 500 High-Throughput の一致率の一例であり、検出されるすべての CNV が記載されているわけではありません。

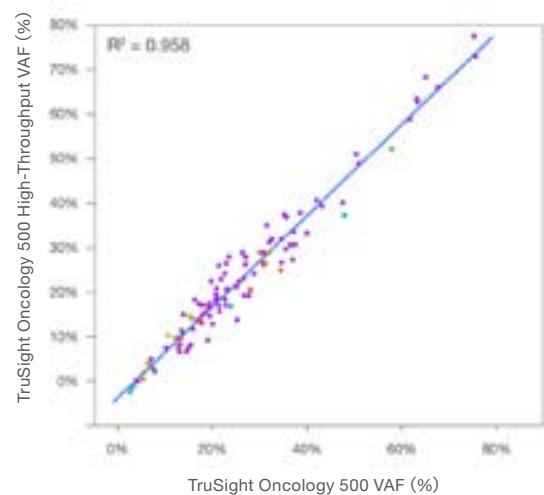


がんタイプ
 ● 膀胱 ● 乳房 ● 結腸 ● 肺 ● 前立腺 ● 皮膚

図 7 : TruSight Oncology 500 と TruSight Oncology 500 High-Throughput によって検出される CNV の高い一致率

FFPE サンプルからの高感度バリエーション検出

ターゲット濃縮ケミストリーの利点の 1 つに、高度に結合する特異性を与えるためにデザインされた十分に大きなプローブを使用できるだけでなく、小さな変異を含むターゲットに対してハイブリダイゼーションできます。このメカニズムにより、自然なアリルバリエーションと、FFPE 組織サンプルから混入したアーチファクトの両方の脱落を低減できます。アッセイでは高い再現性により、FFPE サンプルからわずか 5% VAF のバリエーションも検出します (図 8、表 8)。



組織タイプ
 ● 膀胱 ● 骨 ● 乳房 ● 結腸 ● 肺 ● 前立腺 ● 皮膚 ● 小腸 ● 胃 ● 甲状腺 ● 子宮

図 8 : 高感度のバリエーション検出 : TruSight Oncology 500 と TruSight Oncology 500 High-Throughput での高い VAF 一致率

表 8 : Small Variant の高感度検出

遺伝子	変異	検出	VAF		バリエーションタイプ
			TruSight Oncology 500	TruSight Oncology 500 High-Throughput	
AKT1	E17K	✓	20%	18%	SNV
BRAF	V600E	✓	19%	19%	SNV
CDKN2A	R58*	✓	12%	14%	SNV
CTNNA1	G34E	✓	16%	18%	SNV
EGFR	L858R	✓	18%	17%	SNV
EGFR	T790M	✓	13%	12%	SNV
FBXW7	R465C	✓	8%	7%	SNV
FGFR2	S252W	✓	32%	32%	SNV
GNAS	R876*	✓	5%	5%	SNV
H3F3B	K37M	✓	31%	30%	SNV
IDH2	R140Q	✓	23%	22%	SNV
KRAS	G12D	✓	6%	6%	SNV
NRAS	Q61K	✓	15%	18%	SNV
PIK3CA	E542K	✓	14%	15%	SNV
PTCH1	A563V	✓	4%	4%	SNV
SMARCA4	R973W	✓	3%	3%	SNV
TP53	R248Q	✓	29%	27%	SNV
RET	A845V	✓	7%	8%	MNV
APC	T1556Nfs*3	✓	21%	20%	挿入
ARID1A	D1850Tfs*33	✓	4%	5%	欠失
EP300	H2324fs*29	✓	24%	20%	欠失
KMT2A (MLL)	K3828Rfs*31	✓	3%	3%	欠失
PTEN	K267Rfs*9	✓	21%	21%	欠失
RNF43	G659Vfs*41	✓	18%	18%	欠失

この表内に示すデータは、TruSight Oncology 500 と TruSight Oncology 500 High-Throughput の一致率の一例であり、検出されるすべての SNV および Indel が記載されているわけではありません。SNV = 1 塩基変異、MNV = 複数塩基変異

RNA 融合の確実な検出

がんの発生原因にはエピジェネティックな変化や発現レベルの変化の他に、遺伝子融合があり、これらは一般的なシーケンスでは検出できません。^{12, 13} TruSight Oncology 500 アッセイではターゲット RNA シーケンスにハイブリッドキャプチャー法を使用することで、パートナーに依存せず遺伝子融合を検出し、特徴付けることができます。偽陽性が生じるため確認試験を必要とするアンプリコンベース手法と異なり、ハイブリッドキャプチャー法はきわめて感度が高く、既知および新規の融合遺伝子パートナーとの遺伝子融合を正確に特徴付けることができます。

RNA 解析で同等の結果を得るには、TruSight Oncology 500 では 40 ng RNA、TruSight Oncology 500 High-Throughput では 40 ~ 80 ng の範囲の RNA を使用することをお勧めします。FFPE 組織からの FFPE RNA 収量が低い場合も、TruSight Oncology 500 High-Throughput ではインプット量 40 ng RNA のまま使用して、中~高レベルで発現するバリエーションを検出できます。ただし、十分な RNA が利用できる場合は、インプット量を 80 ng にすることで、ごく低い濃度で存在する融合も検出可能な最大限の感度を得られます (表 9)。

表 9 : 融合およびスプライスバリエーションの確実な検出

RNA 融合	検出	RNA インプット量			組織
		40 ng	60 ng	80 ng	
ALK-EML4	✓	15	21	40	肺
EGFR-RAB3IP	✓	5	9	19	脳
EGFR-METTL1	✓	25	84	71	脳
BRCA1-MPP2	✓	25	28	29	不明
ALK-BRE	✓	75	112	128	肉腫
CCDC170-ESR1	✓	122	59	168	腎臓
MYC-MRPL13	✓	27	35	52	乳房
MYC-STK3	✓	11	39	28	乳房
ROS1;GOPC-ENC1	✓	32	53	93	肺
ROS1;GOPC-CD74	✓	104	92	141	肺
ANKUB1;RNF13-ETV5;DGKG	✓	29	45	72	子宮
NTRK3-SEMA6A	✓	7	16	25	皮膚
RET-NCOA4	✓	74	78	154	甲状腺
EWSR1-ATF1	✓	19	30	32	肉腫
EWSR1-CBY1	✓	44	30	97	肉腫
BRCA2-NRXN3	✓	33	60	84	骨
FLT3-SMOX	✓	50	72	54	骨
FLT3-VWA8	✓	29	51	69	骨
FLT3-LCP1	✓	12	32	47	骨
スプライスバリエーション					
ARV7	✓	26	38	46	乳房
EGFR v3	✓	567	884	937	脳
EGFR v3	✓	1249	1614	2049	脳

NextSeq 500 システムで TruSight Oncology 500 を使用して検出される融合およびスプライスバリエーション。表内の値は、それぞれの RNA インプット量での、各サンプルに対してサポートされるリード数を表します。RNA 融合のカットオフ値は 5 であり、スプライスバリエーションのカットオフ値は 10 とします。

未来を見据えた計画

TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput は、現在 NGS を使用しているラボに容易に導入できます。これにより、まったく新しい技術を模索しなくとも、既存の設備で包括的なゲノムプロファイリング機能を実現できます。独立したいくつものバイオマーカーアッセイを単一のアッセイに統合することで、ラボではサンプルや時間、経費を削減できるだけでなく、陽性バイオマーカーを特定する可能性を高めることができます。さらに、腫瘍アッセイをインハウスで実施できれば、サンプルと生データをラボ内に保管しておくことが可能になり、Tumor Board にも積極的に参加できるようになります。

まとめ

TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput は NGS ベースのハイブリッドキャプチャーアッセイであり、少量のサンプルを使用した 1 回のアッセイで、ガイドラインおよび臨床試験で扱われる主要なすべてのバイオマーカーの解析を行って、包括的なゲノムプロファイリングを可能にします。DNA および RNA ハイブリッドキャプチャーを高度なインフォマティクスと組み合わせることで、エラーを低減し、FFPE サンプルからでも高品質のデータを産出します。TruSight Oncology 500 High-Throughput を導入したラボでは、バッチ処理の規模を拡大でき、毎週のサンプル処理量を増やすことができます。TruSight Oncology 500 の活用により、ラボの効率性が高まり、より有効性の高い結果を得られます。

製品情報

製品	インデックス数 / サンプル数	カタログ 番号
TruSight Oncology 500 DNA のみ		
TruSight Oncology 500 DNA Kit ^a	16 インデックス 48 サンプル	20028213
TruSight Oncology 500 DNA Kit, plus PierianDx ^a	16 インデックス 48 サンプル	20032624
TruSight Oncology 500 DNA Kit, for Use with NextSeq ^b	16 インデックス 48 サンプル	20028214
TruSight Oncology 500 DNA Kit, for Use with NextSeq, plus PierianDx ^b	16 インデックス 48 サンプル	20032625
TruSight Oncology 500 DNA/RNA		
TruSight Oncology 500 DNA/RNA Bundle ^a	16 インデックス 24 サンプル	20028215
TruSight Oncology 500 DNA/RNA Bundle, plus PierianDx ^a	16 インデックス 24 サンプル	20032626
TruSight Oncology 500 DNA/RNA Bundle, for Use with NextSeq ^b	16 インデックス 24 サンプル	20028216
TruSight Oncology 500 DNA/RNA Bundle, for Use with NextSeq, plus PierianDx ^b	16 インデックス 24 サンプル	20032627
TruSight Oncology 500 High-Throughput DNA のみ		
TruSight Oncology 500 DNA High- Throughput Kit	48 サンプル	20040765
TruSight Oncology 500 DNA High- Throughput Kit, with PierianDx	48 サンプル	20040769
TruSight Oncology 500 DNA High- Throughput Kit	144 サンプル	20040767
TruSight Oncology 500 DNA High- Throughput Kit, with PierianDx	144 サンプル	20040771
TruSight Oncology 500 High-Throughput DNA/RNA		
TruSight Oncology 500 DNA/RNA High- Throughput Kit	24 サンプル	20040764
TruSight Oncology 500 DNA/RNA High- Throughput Kit, with PierianDx	24 サンプル	20040768
TruSight Oncology 500 DNA/RNA High- Throughput Kit	72 サンプル	20040766
TruSight Oncology 500 DNA/RNA High- Throughput Kit, with PierianDx	72 サンプル	20040770
TruSight Oncology 500 High-Throughput 用インデックスキット		
IDT for Illumina UMI DNA Index Anchors-Set A	96 インデックス	20034701
IDT for Illumina UMI DNA Index Anchors-Set B	96 インデックス	20034702
TruSight Oncology 500 High-Throughput 用 NovaSeq Reagent Kit		
NovaSeq SP Reagent Kit (200 サイクル)		20040326
NovaSeq S1 Reagent Kit (200 サイクル)		20012864
NovaSeq S2 Reagent Kit (200 サイクル)		20012861
NovaSeq S4 Reagent Kit (200 サイクル)		20027466
a. DNA ライブラリー調製試薬および濃縮試薬を含み、NextSeq システムのシーケンス試薬を含みません。		
b. DNA ライブラリー調製試薬および濃縮試薬、ならびに NextSeq システムのシーケンス試薬を含みます。		

詳細はこちらから

TruSight Oncology 500 および TruSight Oncology 500 High-Throughput についての詳細は、jp.illumina.com/tso500 をご覧ください。

参考文献

- Stransky N, Cerami E, Schalm S, Kim JL, Lengauer C. *The landscape of kinase fusions in cancer*. Nat Commun.2014;5:4846. doi:10.1038/ncomms5846.
- Boland GM, Piha-Paul SA, Subbiah V, et al. *Clinical next generation sequencing to identify actionable aberrations in a phase I program*. Oncotarget.2015;6(24):20099-20110.
- Massard C, Michiels S, Ferte C, et al. *High-Throughput Genomics and Clinical Outcome in Hard-to-Treat Advanced Cancers:Results of the MOSCATO 01 Trial*. Cancer Discov.2017;7(6):586-595.
- Harris MH, DuBois SG, Glade Bender JL, et al. *Multicenter Feasibility Study of Tumor Molecular Profiling to Inform Therapeutic Decisions in Advanced Pediatric Solid Tumors:The Individualized Cancer Therapy (iCat) Study*. JAMA Oncol.2016. doi:10.1001/jamaoncol.2015.5689.
- Parsons DW, Roy A, Yang Y, et al. *Diagnostic Yield of Clinical Tumor and Germline Whole-Exome Sequencing for Children With Solid Tumors*. JAMA Oncol.2016.doi:10.1001/jamaoncol.2015.5699.
- Zehir A, Benayed R, Shah RH, et al. *Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients*. Nat Med.2017;23(6):703-713.
- Tray N, Weber JS, Adams S. *Predictive Biomarkers for Checkpoint Immunotherapy:Current Status and Challenges for Clinical Application*. Cancer Immunol Res.2018;6(10):1122-1128.
- Samstein RM, Lee CH, Shoushtari AN, et al. *Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types*. Nat Genet.2019;51(2):202-206.
- Illumina (2018) Analysis of TMB and MSI Status with TruSight Oncology 500. (www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/appnotes/trusight-oncology-500-tmb-analysis-1170-2018-009.pdf).
- Illumina (2017) TruSight Oncology UMI Reagents.(www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/trusight-oncology-umi-reagents-datasheet-1000000050425.pdf).
- Beroukhi R1, Mermel CH, Porter D, et al. *The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers*. Nature.2010;463(7283):899-905.
- Green MR, Vicente-Duenas C, Romero-Camarero I, et al. *Transient expression of BCL6 is sufficient for oncogenic function and induction of mature B-cell lymphoma*. Nat Commun.2014;5:3904 doi:10.1038/ncomms4904.
- Piskol R, Ramaswami G, Li JB. *Reliable identification of genomic variants from RNA-seq data*. Am J Hum Genet.2013;93(4):641-651.

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/illumina

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

© 2020 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 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. 1170-2018-010-G JPN QB6687 12AUG2020

