

機械器具17 血液検査用器具 その他の医用検体検査装置

高度管理医療機器

遺伝子変異解析セット（がんゲノムプロファイリング検査用） JMDNコード：60943013

TruSight Oncology Comprehensive パネルシステム

【警告】

本品による検査を実施する際には、関連する指針等に提示される施設要件を満たすことを確認するとともに、関連学会が作成したガイドライン等の最新の情報を参考にすること。

【形状・構造及び原理等】

本品は、「TruSight Oncology Comprehensive 解析プログラム」、及び「TruSight Oncology Comprehensive キット」より構成されるコンビネーション医療機器である。

本品の構成品

販売名
TruSight Oncology Comprehensive 解析プログラム
TruSight Oncology Comprehensive キット

＜TruSight Oncology Comprehensive 解析プログラム＞

本品プログラムは、USBドライブで提供され、NextSeq™ 550Dx システムにインストールされ、遺伝子異常を解析、解釈し、報告する機能を持つ。本品プログラムの入力データはNextSeq 550Dx システムからBCLファイルとして受け取り、解析される。出力ファイルはPDFの最終報告書として出力される。（付帯情報としてJSONファイルとLowDepth Reportが出力される）

＜TruSight Oncology Comprehensive キット＞

本キットは次の試薬により構成され、NextSeq 550Dx システムによる解析用のライブラリ調製のために使用する。なお、RNAならびにDNAのコントロール試薬は、本品試薬キットとは別梱包で供給される。

試薬名	構成
TruSight Oncology Comp RNA Library Prep (1/8)	- First Strand Synthesis Mix (FSM) - Second Strand Mix (SSM) - Elution Primer Frag Mix (EPH3) - Reverse Transcriptase (RVT)
TruSight Oncology Comp Library Prep (2/8) (凍結)	- End Repair A-tailing A (ERA1-A) - End Repair A-tailing B (ERA1-B) - Adapter Ligation Buffer 1 (ALB1) - DNA Ligase 3 (LIG3) - Short Universal Adapters 1 (SUA1) - UMI Adapters v1 (UMI) - Stop Ligation Buffer (STL) - Enhanced PCR Mix (EPM)
TruSight Oncology Comp Library Prep (3/8) (冷蔵)	- Resuspension Buffer (RSB) - Sample Purification Beads (SPB) - TE Buffer (TEB)
TruSight Oncology Comp UP Index Primers (4/8)	- UP01 - UP02 - UP03 - UP04 - UP05 - UP06 - UP07 - UP08 - UP09 - UP10 - UP11 - UP12 - UP13 - UP14 - UP15

試薬名	構成
	UP16
TruSight Oncology Comp CP Index Primers (5/8)	- CP01 - CP02 - CP03 - CP04 - CP05 - CP06 - CP07 - CP08 - CP09 - CP10 - CP11 - CP12 - CP13 - CP14 - CP15 - CP16
TruSight Oncology Comp Enrichment (6/8) (冷蔵)	- Target Capture Buffer 1 (TCB1) - Streptavidin Mag Beads (SMB) 2N NaOH (HP3) - Elute Target Buffer 2 (ET2) - Library Normalization Beads 1 (LNB1) - Library Normalization Wash 1 (LNW1) - Library Normalization Storage Buffer 1 (LNS1) - Resuspension Buffer (RSB) - Sample Purification Beads (SPB)
TruSight Oncology Comp Enrichment (7/8) (凍結)	- Target Capture Additives 1 (TCA1) - Enhanced Enrichment Wash (EEW) - Enrichment Elution 2 (EE2) - Enhanced PCR Mix (EPM) - PCR Primer Cocktail 3 (PPC3) - Library Normalization Additives 1 (LNA1) - PhiX Internal Control (PX3)
TruSight Oncology Comp Content Set (8/8)	- Oncology RNA Probe Pool 1 (OPR1) - Oncology DNA Probe Pool 2 (OPD2)
TruSight Oncology RNA Control	Oncology RNA Control
TruSight Oncology DNA Control	Oncology DNA Control

原理

本品は、悪性固形腫瘍を有するがん患者から摘出された腫瘍組織のホルマリン固定パラフィン包埋（Formalin-fixed Paraffin-embedded, 以下、FFPE）標本から抽出した核酸を検体としてDNAライブラリを調製し、NextSeq 550Dx システムを用いた次世代シーケンス法により、517のがん関連遺伝子について変異を検出する試薬と解析用ソフトウェアとの組合せ製品である。

本品を用いることで、DNA検体からは一塩基変異（Single Nucleotide Variant, 以下、SNV）、多塩基変異（Multiple Nucleotide Variant, 以下、MNV）、挿入・欠失（Insertion, Deletion, 以下、Indel）を含むSmall DNA Variant、遺伝子増幅（Copy Number Variation, 以下、CNV）、RNA検体からは融合遺伝子（Fusion）、スプライス・バリエント（Splice Variant）などの遺伝子変異タイプが検出できる。

本品の解析対象遺伝子
S = Small DNA Variant (517), A = Copy Number Variation (2),
F = Fusion (23), Sp = Splice Variant (2)

No.	遺伝子	変異タイプ	No.	遺伝子	変異タイプ	No.	遺伝子	変異タイプ
1	ABL1	S	176	FGFR3	S, F	351	PAX8	S
2	ABL2	S	177	FGFR4	S	352	PBRM1	S
3	ABRAXAS1	S	178	FH	S	353	PDCD1	S
4	ACVR1	S	179	FLCN	S	354	PDCD1LG2	S
5	ACVR1B	S	180	FLI1	S	355	PDGFRA	S
6	ADGRA2	S	181	FLT1	S	356	PDGFRB	S
7	AKT1	S	182	FLT3	S	357	PKD1	S
8	AKT2	S	183	FLT4	S	358	PDPK1	S
9	AKT3	S	184	FOXA1	S	359	PGR	S
10	ALK	S, F	185	FOXL2	S	360	PHF6	S
11	ALOX12B	S	186	FOXO1	S	361	PHOX2B	S
12	AMER1	S	187	FOXP1	S	362	PIK3C2B	S
13	ANKRD11	S	188	FRS2	S	363	PIK3C2G	S
14	ANKRD26	S	189	FUBP1	S	364	PIK3C3	S
15	APC	S	190	FYN	S	365	PIK3CA	S
16	AR	S	191	GABRA6	S	366	PIK3CB	S
17	ARAF	S	192	GATA1	S	367	PIK3CD	S
18	ARFRP1	S	193	GATA2	S	368	PIK3CG	S
19	ARID1A	S	194	GATA3	S	369	PIK3R1	S
20	ARID1B	S	195	GATA4	S	370	PIK3R2	S
21	ARID2	S	196	GATA6	S	371	PIK3R3	S
22	ARID5B	S	197	GEN1	S	372	PIM1	S
23	ASXL1	S	198	GID4	S	373	PLCG2	S
24	ASXL2	S	199	GLI1	S	374	PLK2	S
25	ATM	S	200	GNA11	S	375	PMAIP1	S
26	ATR	S	201	GNA13	S	376	PMS1	S
27	ATRX	S	202	GNAQ	S	377	PMS2	S
28	AURKA	S	203	GNAS	S	378	PNRC1	S
29	AURKB	S	204	GPS2	S	379	POLD1	S

No.	遺伝子	変異タイプ	No.	遺伝子	変異タイプ	No.	遺伝子	変異タイプ
30	AXIN1	S	205	GREM1	S	380	POLE	S
31	AXIN2	S	206	GRIN2A	S	381	PPARG	S
32	AXL	S, F	207	GRM3	S	382	PPM1D	S
33	B2M	S	208	GSK3B	S	383	PPP2R1A	S
34	BAP1	S	209	H3F3A	S	384	PPP2R2A	S
35	BARD1	S	210	H3F3B	S	385	PPP6C	S
36	BBC3	S	211	H3F3C	S	386	PRDM1	S
37	BCL10	S	212	HGF	S	387	PREX2	S
38	BCL2	S, F	213	HIST1H1C	S	388	PRKAR1A	S
39	BCL2L1	S	214	HIST1H2BD	S	389	PRKCI	S
40	BCL2L11	S	215	HIST1H3A	S	390	PRKDC	S
41	BCL2L2	S	216	HIST1H3B	S	391	PRKN	S
42	BCL6	S	217	HIST1H3C	S	392	PRSS8	S
43	BCOR	S	218	HIST1H3D	S	393	PTCH1	S
44	BCORL1	S	219	HIST1H3E	S	394	PTEN	S
45	BCR	S	220	HIST1H3F	S	395	PTPN11	S
46	BIRC3	S	221	HIST1H3G	S	396	PTPRD	S
47	BLM	S	222	HIST1H3H	S	397	PTPRS	S
48	BMPR1A	S	223	HIST1H3I	S	398	PTPRT	S
49	BRAF	S, F	224	HIST1H3J	S	399	QKI	S
50	BRCA1	S	225	HIST2H3A	S	400	RAB35	S
51	BRCA2	S	226	HIST2H3C	S	401	RAC1	S
52	BRD4	S	227	HIST2H3D	S	402	RAD21	S
53	BRIP1	S	228	HIST3H3	S	403	RAD50	S
54	BTG1	S	229	HNF1A	S	404	RAD51	S
55	BTK	S	230	HNRNPK	S	405	RAD51B	S
56	CALR	S	231	HOXB13	S	406	RAD51C	S
57	CARD11	S	232	HRAS	S	407	RAD51D	S
58	CASP8	S	233	HSD3B1	S	408	RAD52	S
59	CBFB	S	234	HSP90AA1	S	409	RAD54L	S
60	CBL	S	235	ICOSLG	S	410	RAF1	S, F

Assay Workflow Guide 等の取扱説明書を必ずご参照ください。

No.	遺伝子	変異タイプ	No.	遺伝子	変異タイプ	No.	遺伝子	変異タイプ
61	CCND1	S	236	ID3	S	411	RANBP2	S
62	CCND2	S	237	IDH1	S	412	RARA	S
63	CCND3	S	238	IDH2	S	413	RASA1	S
64	CCNE1	S	239	IFNGR1	S	414	RB1	S
65	CD274	S	240	IGF1	S	415	RBM10	S
66	CD276	S	241	IGF1R	S	416	RECQL4	S
67	CD74	S	242	IGF2	S	417	REL	S
68	CD79A	S	243	IKBKE	S	418	RET	S, F
69	CD79B	S	244	IKZF1	S	419	RHEB	S
70	CDC73	S	245	IL10	S	420	RHOA	S
71	CDH1	S	246	IL7R	S	421	RICTOR	S
72	CDK12	S	247	INH1	S	422	RIT1	S
73	CDK4	S	248	INHBA	S	423	RNF43	S
74	CDK6	S	249	INPP4A	S	424	ROS1	S, F
75	CDK8	S	250	INPP4B	S	425	RPS6KA4	S
76	CDKN1A	S	251	INSR	S	426	RPS6KB1	S
77	CDKN1B	S	252	IRF2	S	427	RPS6KB2	S
78	CDKN2A	S	253	IRF4	S	428	RPTOR	S
79	CDKN2B	S	254	IRS1	S	429	RUNX1	S
80	CDKN2C	S	255	IRS2	S	430	RUNX1T1	S
81	CEBPA	S	256	JAK1	S	431	RYBP	S
82	CENPA	S	257	JAK2	S	432	SDHA	S
83	CHD2	S	258	JAK3	S	433	SDHAF2	S
84	CHD4	S	259	JUN	S	434	SDHB	S
85	CHEK1	S	260	KAT6A	S	435	SDHC	S
86	CHEK2	S	261	KDM5A	S	436	SDHD	S
87	CIC	S	262	KDM5C	S	437	SETBP1	S
88	COP1	S	263	KDM6A	S	438	SETD2	S
89	CREBBP	S	264	KDR	S	439	SF3B1	S
90	CRKL	S	265	KEAP1	S	440	SH2B3	S
91	CRLF2	S	266	KEL	S	441	SH2D1A	S

No.	遺伝子	変異タイプ	No.	遺伝子	変異タイプ	No.	遺伝子	変異タイプ
92	CSF1R	S	267	KIF5B	S, F	442	SHQ1	S
93	CSF3R	S	268	KIT	S	443	SLIT2	S
94	CSNK1A1	S	269	KLF4	S	444	SLX4	S
95	CTCF	S	270	KLHL6	S	445	SMAD2	S
96	CTLA4	S	271	KMT2A	S	446	SMAD3	S
97	CTNNA1	S	272	KRAS	S	447	SMAD4	S
98	CTNNB1	S	273	LAMP1	S	448	SMARCA4	S
99	CUL3	S	274	LATS1	S	449	SMARCB1	S
100	CUX1	S	275	LATS2	S	450	SMARCD1	S
101	CXCR4	S	276	LMO1	S	451	SMC1A	S
102	CYLD	S	277	LRP1B	S	452	SMC3	S
103	DAXX	S	278	LYN	S	453	SMO	S
104	DCUN1D1	S	279	LZTR1	S	454	SNCAIP	S
105	DDR2	S	280	MAGI2	S	455	SOCS1	S
106	DDX41	S	281	MALT1	S	456	SOX10	S
107	DHX15	S	282	MAP2K1	S	457	SOX17	S
108	DICER1	S	283	MAP2K2	S	458	SOX2	S
109	DIS3	S	284	MAP2K4	S	459	SOX9	S
110	DNAJB1	S	285	MAP3K1	S	460	SPEN	S
111	DNMT1	S	286	MAP3K13	S	461	SPOP	S
112	DNMT3A	S	287	MAP3K14	S	462	SPTA1	S
113	DNMT3B	S	288	MAP3K4	S	463	SRC	S
114	DOT1L	S	289	MAPK1	S	464	SRSF2	S
115	E2F3	S	290	MAPK3	S	465	STAG1	S
116	EED	S	291	MAX	S	466	STAG2	S
117	EGFL7	S	292	MCL1	S	467	STAT3	S
118	EGFR	S, F, Sp	293	MDC1	S	468	STAT4	S
119	EIF1AX	S	294	MDM2	S	469	STAT5A	S
120	EIF4A2	S	295	MDM4	S	470	STAT5B	S
121	EIF4E	S	296	MED12	S	471	STK11	S
122	ELOC	S	297	MEF2B	S	472	STK40	S

Assay Workflow Guide 等の取扱説明書を必ずご参照ください。

No.	遺伝子	変異タイプ	No.	遺伝子	変異タイプ	No.	遺伝子	変異タイプ
123	EML4	S, F	298	MEN1	S	473	SUFU	S
124	EMSY	S	299	MET	S, A, Sp	474	SUZ12	S
125	EP300	S	300	MGA	S	475	SYK	S
126	EPCAM	S	301	MITF	S	476	TAF1	S
127	EPHA3	S	302	MLH1	S	477	TBX3	S
128	EPHA5	S	303	MLLT3	S	478	TCF3	S
129	EPHA7	S	304	MPL	S	479	TCF7L2	S
130	EPHB1	S	305	MRE11	S	480	TERC	S
131	ERBB2	S, A	306	MSH2	S	481	TERT	S
132	ERBB3	S	307	MSH3	S	482	TET1	S
133	ERBB4	S	308	MSH6	S	483	TET2	S
134	ERCC1	S	309	MST1	S	484	TFE3	S
135	ERCC2	S	310	MST1R	S	485	TFRC	S
136	ERCC3	S	311	MTOR	S	486	TGFBR1	S
137	ERCC4	S	312	MUTYH	S	487	TGFBR2	S
138	ERCC5	S	313	MYB	S	488	TMEM127	S
139	ERG	S, F	314	MYC	S	489	TMPRSS2	S, F
140	ERRFI1	S	315	MYCL	S	490	TNFAIP3	S
141	ESR1	S, F	316	MYCN	S	491	TNFRSF14	S
142	ETS1	S	317	MYD88	S	492	TOP1	S
143	ETV1	S, F	318	MYOD1	S	493	TOP2A	S
144	ETV4	S, F	319	NAB2	S	494	TP53	S
145	ETV5	S	320	NBN	S	495	TP63	S
146	ETV6	S	321	NCOA3	S	496	TRAF2	S
147	EWSR1	S	322	NCOR1	S	497	TRAF7	S
148	EZH2	S	323	NEGR1	S	498	TSC1	S
149	FAM46C	S	324	NF1	S	499	TSC2	S
150	FANCA	S	325	NF2	S	500	TSHR	S
151	FANCC	S	326	NFE2L2	S	501	U2AF1	S
152	FANCD2	S	327	NFKBIA	S	502	VEGFA	S
153	FANCE	S	328	NKX2-1	S	503	VHL	S

No.	遺伝子	変異タイプ	No.	遺伝子	変異タイプ	No.	遺伝子	変異タイプ
154	FANCF	S	329	NKX3-1	S	504	VTCN1	S
155	FANCG	S	330	NOTCH1	S	505	WISP3	S
156	FANCI	S	331	NOTCH2	S	506	WT1	S
157	FANCL	S	332	NOTCH3	S	507	XIAP	S
158	FAS	S	333	NOTCH4	S	508	XPO1	S
159	FAT1	S	334	NPM1	S	509	XRCC2	S
160	FBXW7	S	335	NRAS	S	510	YAP1	S
161	FGF1	S	336	NRG1	S, F	511	YES1	S
162	FGF10	S	337	NSD1	S	512	ZBTB2	S
163	FGF14	S	338	NTRK1	S, F	513	ZBTB7A	S
164	FGF19	S	339	NTRK2	S, F	514	ZFHX3	S
165	FGF2	S	340	NTRK3	S, F	515	ZNF217	S
166	FGF23	S	341	NUP93	S	516	ZNF703	S
167	FGF3	S	342	NUTM1	S	517	ZRSR2	S
168	FGF4	S	343	PAK1	S			
169	FGF5	S	344	PAK3	S			
170	FGF6	S	345	PAK5	S			
171	FGF7	S	346	PALB2	S			
172	FGF8	S	347	PARP1	S			
173	FGF9	S	348	PAX3	S, F			
174	FGFR1	S, F	349	PAX5	S			
175	FGFR2	S, F	350	PAX7	S			

判定基準

以下に示す測定品質に合格した検体のバリエーションのみが本システムによって自動で判定され、最終報告書に表示される。

<システム適合性に関する規格>

測定品質	基準	規格値
ラン	PCT_PF_READS	≥ 80.0%
	PCT_Q30_R1	≥ 80.0%
	PCT_Q30_R2	≥ 80.0%
DNAライブラリ	CONTAMINATION_SCORE, CONTAMINATION_P_VALUE	≤ 3106 又は、 > 3106及びp値 ≤ 0.049
	MEDIAN INSERT SIZE	≥ 70 bp
	MEDIAN EXON COVERAGE	≥ 150
	PCT_EXON_50X	≥ 90.0%

Assay Workflow Guide 等の取扱説明書を必ずご参照ください。

測定品質	基準	規格値
	COVERAGE MAD	≤ 0.210
	MEDIAN_BIN_COUNT_CNV_TARGET	≥ 1.0
RNAライブラリ	MEDIAN CV GENE 500X	≤ 0.93
	MEDIAN INSERT SIZE	≥ 80 bp
	TOTAL_ON_TARGET_READS	≥ 9,000,000
陽性コントロール	DNA External Control	24種類のバリエーションのうち23種類が検出される
	RNA External Control	13種類のバリエーションのうち12種類が検出される
陰性コントロール	DNA MEDIAN EXON COVERAGE	≤ 8
	RNA GENE ABOVE MEDIAN CUTOFF	≤ 1

【使用目的又は効果】

本品は、固形がん患者を対象とした腫瘍組織の包括的なゲノムプロファイルを取得する。

〈使用目的又は効果に関連する使用上の注意〉

本品による包括的ゲノムプロファイリング検査の出力結果に基づく診断や治療方針決定においては、がんゲノム医療に精通した医師が、最新の医学知見に基づき、治療歴、他の関連する検査結果、臨床症状とあわせて、総合的に判断すること。

【使用方法等】

TruSight Oncology Comprehensive 解析プログラム

組み合わせて使用する医療機器が指定されている。
本品プログラムは、NextSeq 550Dx システム上で使用する。コンビネーション医療機器として承認された本品試薬を使用してDNAライブラリ調製を行い、シーケンス解析を行う。本品プログラムを用いて解析を行い、解析結果を含むレポートを出力する。

組み合わせて使用する医療機器

本品は「NextSeq 550Dx システム（製造販売届出番号：13B1X10303000001）」と組み合わせて使用する。

TruSight Oncology Comprehensive キット

＜試薬の調製方法＞

特に指定がない場合は、氷上で融解後、ボルテックスで混合してから使用する。

FFPE標本からの核酸抽出

FFPE標本組織は、「ゲノム研究用・診療用病理組織検体取扱規定」（日本病理学会）に記載のホルマリン固定条件等を遵守された検体を用いる。
汎用の核酸抽出キットを用いて、腫瘍組織のFFPE標本からゲノムDNA及びTotal RNAを抽出する。抽出後、DNA及びRNAを定量し、それぞれ40ngをライブラリ調製に供する。本システムには最低20%の腫瘍含有量（領域別）が必要である。

ライブラリ調製方法

ゲノムDNAについては、DNA断片化用超音波発生装置を用いて断片化を行う。Total RNA 40ngについては逆転写反応等により二本鎖cDNAへと変換する。それぞれ得られたDNAに対してシーケンシングのためのユニバーサルアダプターとしてP5及びP7インデックス配列を付加することで、フローセル上で断片を補足できるようにしたものを、DNAライブラリとする。なお、

インデックス配列には個々の検体を識別できるユニークな配列が含まれる。

その後、以下の（1）から（5）までの工程を経て、標的遺伝子のDNAライブラリのみをハイブリッドキャプチャー法で特異的に濃縮する。

- （1）標的遺伝子に、相補的な配列をもつビオチン化プローブとDNAライブラリをハイブリダイズさせる。
- （2）ストレプトアビジン付加磁気ビーズを用いて、プローブがハイブリダイズしたDNAライブラリとフリーのDNAライブラリをB/F分離する。
- （3）プローブがハイブリダイズしたDNAライブラリを洗浄し、PCRにより増幅する。
- （4）増幅されたDNAライブラリを、磁気ビーズを用いてノーマライズする。
- （5）各DNAライブラリを等モル量でプールし、DNAシーケンスに適切な濃度に希釈する。

（cDNA 合成）

変性とRNAアニール（LQ-RNA）	反応量：17μl
RNA 試料	40ng
第一鎖cDNA合成（1stSS）	反応量：25μl
FSM+RVT マスターミックス	
成分	3 RNA 試料 8 RNA 試料 16 RNA 試料 24 RNA 試料
FSM	27μl 72μl 144μl 216μl
RVT	3μl 8μl 16μl 24μl
第二鎖cDNA合成（2ndSS）	反応量：50μl

（ゲノム DNA（gDNA）断片化）

gDNA	40ng
------	------

末端修飾及び A テーリング

断片化された核酸					50μl
ERA1 マスターミックス					
成分	3 ライブラ リ	8 ライブ ラリ	16 ライブラ リ	24 ライブラ リ	48 ライブ ラリ
ERA1-B	26μl	69μl	138μl	207μl	415μl
ERA1-A	10μl	27μl	54μl	81μl	161μl

インデックス PCR

インデックスPCR	反応量：50μl
-----------	----------

ハイブリダイゼーション

第一段階 (HYB1)					反応量 : 50μl
cDNA/gDNAライブラリ					20μl
ターゲットキャプチャ用 EE2+HP3 溶出ミックス 1					
成分	3 ライ ブラリ	8 ライ ブラリ	16 ライブ ラリ	24 ライブ ラリ	48 ライブ ラリ
EE2	85.5μl	228μl	456μl	684μl	1368μl
HP3	4.5μl	12μl	24μl	36μl	72μl
第二段階 (HYB2)					反応量 : 50μl
ターゲットキャプチャ用 EE2+HP3 溶出ミックス 2					
成分	3 ライ ブラリ	8 ライ ブラリ	16 ライブ ラリ	24 ライブ ラリ	48 ライブ ラリ
EE2	85.5μl	228μl	456μl	684μl	1368μl
HP3	4.5μl	12μl	24μl	36μl	72μl

エンリッチメント

エンリッチメント (EL-PCR)		反応量：50μl			
LNA1+LNB1マスターミックス					
成分	3 ライブラリ	8 ライブラリ	16 ライブラリ	24 ライブラリ	48 ライブラリ
LNA1	229μl	610μl	1219μl	1829μl	3658μl
LNB1	41μl	110μl	221μl	331μl	662μl
ライブラリノーマライズ用EE2+HP3溶出ミックス					
成分	3 ライブラリ	8 ライブラリ	16 ライブラリ	24 ライブラリ	48 ライブラリ
EE2	114μl	304μl	608μl	912μl	1824μl
HP3	6μl	16μl	32μl	48μl	96μl

Assay Workflow Guide 等の取扱説明書を必ずご参照ください。

別途必要な器具・器材・資料等

器具・器材

- (1) マイクロピペット
- (2) フィルター付きピペットチップ（ヌクレアーゼフリー）
- (3) マイクロチューブ、96 ウェルプレート
- (4) コニカルチューブ（15 mL もしくは 50 mL）
- (5) 96 ディープウェルプレート（MIDI プレート）
- (6) 96 ウェル PCR プレートおよび専用シール
- (7) MIDI プレート用マグネットスタンド
- (8) ボルテックスミキサー
- (9) プレートシェーカー
- (10) 遠心機（チューブ用、プレート用）
- (11) DNA 断片化用超音波発生装置
- (12) MIDI プレート用インキュベーター
- (13) PCR 装置
- (14) マイクロチューブ用ヒートブロック
- (15) フルオロメーター（Qubit）

試薬

- (1) DNA/RNA 抽出および精製用試薬
- (2) DNA/RNA 定量用試薬
- (3) エタノール 99.5%以上（分子生物学用）
- (4) DNase/RNase-free water
- (5) NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit (300 cycles)

操作方法の概略

cDNA クリーンアップ

抽出した RNA 40ng が入った PCR プレートに EPH3 8.5μl を加え、LQ-RNA プログラムの条件で反応させる。

LQ-RNA プログラム：65°C 5 分
4°C 1 分
4°C 静置

次に、FSM+RVT マスターミックス 8μl を加え、1stSS プログラムの条件で反応させる。

1stSS プログラム：25°C 10 分
42°C 15 分
70°C 15 分
4°C 1 分
4°C 静置

その後、SSM 25μl を加え、2ndSS プログラムの条件で反応させる。

2ndSS プログラム：16°C 25 分
4°C 1 分
4°C 静置

最後に、SPB 90μl を用いて cDNA を精製し、80%EtOH で 2 回洗浄後、cDNA を RSB（22μl、30μl）で溶出する。

gDNA 断片化

gDNA 40ng を、TEB を用いて 52μl（最終液量）で調製したものを断片化する。

末端修飾及び A テーリング

各核酸(cDNA/断片化した gDNA) 50μl が入ったプレートに、ERA1 マスターミックス (ERA1-A、ERA1-B) 10μl を加え、30°C で 30 分インキュベート、次いで 72°C で 20 分インキュベートし、最後に氷上で 5 分静置する。

アダプター付与

末端修復及びA-テーリング反応後、ALB1 60μl、LIG3 5μl を加え、アダプター（試薬：UMI 又はSUA1）をDNA/RNA検体に10μlずつ加え、室温で30分インキュベートした後、STL 5μl を加える。その後、SPB 112μlを用いてアダプター付与したDNA断片を精製し、80%EtOH 200μlで2回洗浄、RSB 27.5μlで溶出する。

インデックス PCR

アダプター付与したDNA断片に適切なインデックスプライマー（UPxxもしくはCPxx）5μlを添加し、EPM 20μlを加え、インデックスPCR（I-PCR）プログラムの条件で増幅する。これにより、インデックス配列が付与されたcDNA/gDNAライブラリを得る。

I-PCRプログラム：98°C 30秒を1サイクル
98°C 10秒
60°C 30秒
72°C 30秒を15サイクル
72°C 5分を1サイクル
10°Cで静置

ハイブリダイゼーション

(第一段階)

PCRプレートで、cDNA/gDNAライブラリ 20μlと各試薬（TCB1 15μl又はTCA1 10μl）、プローブ（試薬：OPR1又はOPD2）5μlを加えた後、HYB1プログラムの条件で反応、ハイブリダイズさせる。

HYB1プログラム：95°C 10分
85°C 2分30秒
75°C 2分30秒
65°C 2分30秒
57°C 静置 8～24時間

次にSMB 150μlを加え、57°Cで25分インキュベートした後、EEW 200μlで3回洗浄する（57°C5分インキュベート）。濃縮ライブラリをEE2+HP3溶出ミックス17μlを用いて溶出し、ET2 5μlで中和する。

(第二段階)

濃縮ライブラリにTCB1 15μl、TCA1 10μlを加え、プローブ（試薬：OPR1又はOPR2）5μlを加えた後、HYB2プログラムの条件で反応、ハイブリダイズさせる。

HYB2プログラム：95°C 10分
85°C 2分30秒
75°C 2分30秒
65°C 2分30秒
57°C 静置 1.5～4時間

次に SMB 150μl を加え、57°C で 25 分インキュベートした後、RSB 200μl で洗浄する。EE2+HP3 溶出ミックス 22μl を用いて溶出し、ET2 5μl で中和する。

エンリッチメント

PCRプレートにPPC3 5μl、EPM 20μlを加え、EL-PCRプログラムの条件で反応させる。

EL-PCRプログラム：98°C 30秒 1サイクル
98°C 10秒
60°C 30秒
72°C 30秒を18サイクル
72°C 5分を 1サイクル
10°Cで静置

次に、SPB 110μl を用いて精製し、80%EtOH 200μl で 2 回洗浄後、RSB 32μl を加えて溶出する。

その後、LNA1+LNB1 マスターミックス 45μl を用いてノーマライズし、LNW1 45μl で 2 回洗浄する。EE2+HP3 溶出ミックス 32μl で溶出し、LNS1 30μl で中和する。

DNAシーケンス（1次解析）

濃縮されたDNAライブラリを、フローセル上でクラスター形成させ、Sequencing by Synthesis Chemistry（以下、SBSケミストリー）法にてNextSeq 550Dx システム（販売名：NextSeq 550Dx システム、届出番号：13B1X10303000001）上でDNA塩基配列を同定する。

SBSケミストリー法は、可逆的ターミネーター法を用いて、伸長中のDNA鎖に取り込まれる際に、単一の蛍光標識されたデオキシヌクレオチド三リン酸（dNTP）塩基を検出する。各dNTP取り込み後、蛍光色素を画像化して塩基を同定し、蛍光標識とターミネーターを除去することで、次のヌクレオチドの取り込みを可能にする。つまり、4つの可逆的ターミネーター結合dNTPが単一の別々の分子として存在する。ベースコールは、各シーケンシングサイクルの間のシグナル強度測定から直接行われ、シーケンシングによるコール結果となる。各ベースコールに品質スコアが割り当てられている。

シーケンシング

PhiX ControlをHP3、RSBを用いて希釈および変性後、これをDNAライブラリに添加し、NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit

v2.5 (300 cycles) でNextSeq 550Dx システムによりシーケンス解析を行う。

シーケンスから解析結果の出力までの手順概要

本品プログラムを用いて、NextSeq 550Dx システムから出力されたシーケンス情報より解析する。解析結果として、遺伝子異常及びアノテーション情報を付与したレポートを出力する。

- (1) NextSeq 550Dx システム上のコンピュータにログインし、本品プログラムを起動する。
- (2) 解析オーダーを登録後、解析を開始する。
- (3) 解析が完了していることを確認する。
- (4) 最終報告書を確認する。
- (5) 本品プログラムを終了し、ログアウトする。

本品が動作することが評価されているプラットフォーム

本品が動作することが評価されているプラットフォームは、NextSeq 550Dx システム（販売名： NextSeq 550Dx システム）のみである。

【使用上の注意】

《重要な基本的注意》

- (1) 本品の包括的ゲノムプロファイリング検査に対する使用に際しては、本品の使用により、必ずしも診断及び治療選択枝方針が提示できるとは限らず、解析結果に基づく診断・治療選択に限界があること等について、事前に患者あるいは代諾者に説明し、適切に文書で同意を取得すること。
- (2) 本品で得られた結果は、特定の医薬品に対する適応判定を目的としたものではない。
- (3) 本品は、基本的に体細胞性遺伝子異常を報告するものであるが、遺伝性の生殖細胞系列の病的バリエーションの可能性を除外するものではない。生殖細胞系列の病的バリエーションが疑われる場合には、適切な臨床的診断及び確認を行うこと。
- (4) 本品は、生殖細胞系列の検査に代わるものでなく、がんの素因に関する情報を提供するものではない。
- (5) 最小検出感度未満の場合は、遺伝子異常が存在する場合でも、陽性と報告されないことがある。
- (6) 検査の目的・方法及び精度、偽陽性・偽陰性を含む診断限界などについて、正確な情報を患者あるいは代諾者にも伝えること。
- (7) FFPE組織標本は、「ゲノム研究用・診療用病理組織検体取扱い規定」（日本病理学会）に記載のホルマリン固定条件等を遵守された検体を用いること。
- (8) 本品検査を実施する前に、組織サンプルを病理医が検査し、意図された用途に適していることを確認すること。
- (9) FFPE組織標本について、切片中の腫瘍含有量が 20%以上である旨を確認することを推奨する。
- (10) 組織標本から抽出された核酸溶液は、抽出工程等での夾雑物があらかじめ適切に除去できていることを確認すること。（例えば、A260/280を使用して核酸の純度を評価する、等。）
- (11) 臓器（骨髄を含む）または組織移植を受けた患者から得られたサンプルにおける本品検査の履行は評価されていない。
- (12) 組織領域の壊死内容が23%以上のサンプルでは、RNA融合及び遺伝子増幅検出に影響がある。組織壊死は核酸収量を減少させる可能性がある。全組織面積の23%を超える壊死が試料切片に含まれている場合、偽陰性結果の可能性を最小限にするために、壊死組織はマクロダイセクションして必要な生存腫瘍含量を確保すること。
- (13) 本品による検査には、FFPE組織から抽出した40ng RNAおよび40ng DNAが最少量として必要である。（検体濃度は、DNAの場合は3.33ng/μL以上、RNAの場合は4.7ng/μL以上、であること。）
- (14) 試験に用いるFFPE組織は脱灰しないこと。
- (15) 薄切したFFPE検体は4週間以内に使用すること。

《その他の注意》

TruSight Oncology Comprehensive キット

- (1) 本品試薬の一部の成分、TruSight Oncology Comp Enrichment 2N NaOH (HP3)には、5%以上の水酸化ナトリウムが含まれ劇物に該当するため、取扱い、廃棄には注意すること。
- (2) 試薬が誤って目や口に入った場合は、直ちに水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当て

などを受けること。

- (3) 正確な結果を得るために、遺伝子検査の熟練者あるいはその指導のもとに試薬や検体の添加量、添加位置に十分に注意して測定を行うこと。
- (4) スクレアーゼフリーの実験器具（ピペット、ピペットチップなど）を使用すること。
- (5) コンタミネーションに注意し、遺伝子検査に適した試験設備環境にて、使い捨て手袋（パウダーフリー）及びマスクを着用して測定を行うこと。試薬や検体が手袋等に付着した場合は、直ちに新しいものに取り替えること。
- (6) 酵素は冷凍庫外での長時間放置を避け、素早く調製・使用すること。また、冷凍試薬の各構成試薬及びそれらを用いて調製した試薬類は、特に指定がない場合は氷上で取り扱うこと。
- (7) 操作中に加温状態で試薬を長時間放置しないこと。
- (8) 融解後のキットの各構成試薬及びそれらを用いて調製された試薬類は液が均一になるまで十分に攪拌し、蓋を開ける前にスピンダウンを行うこと。
- (9) 測定装置は定期的に点検を行い、使用すること。
- (10) 測定装置の取扱説明書を参照し、適切な設定を行い、装置に適した動作環境で使用する。
- (11) 誤って試料をこぼした場合は、保護具を着用し試料が飛び散らないようにペーパータオルなどで静かに拭き取る。拭き取った後は、次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度1.0%以上）で浸すように拭き取り、その後水拭きすること。
- (12) PCR反応生成物は、コンタミネーションを避けるため、ビニール袋で密閉し、各施設の規定に従って廃棄処理すること。
- (13) DNA抽出前の検体を取り扱う際に使用した器具類は、感染の可能性のあるものとし、オートクレーブ等で滅菌処理するか又は1%次亜塩素酸等の消毒液に浸して処理し、各都道府県の規定に従って廃棄処理すること。
- (14) 廃液は水質汚濁防止法等の規制及び各都道府県の条例等に留意して廃液処理すること。

《性能》

本品試薬の仕様

コントロール反応を含め、以下の規格を満たすものとする。

<DNA検体>

品質管理指標		規格
シーケンス	フィルターを通過したリードの割合	≥ 80.0%
	リード1におけるクオリティスコアがQ30以上の塩基の割合	≥ 80.0%
	リード2におけるクオリティスコアがQ30以上の塩基の割合	≥ 80.0%
陽性コントロール	フィルターを通過したリード総数	≥ 59,700,000
	フラグメントのサイズ（塩基数）の中央値	84 ~ 133塩基
	キメリックリード（Chimeric Reads）の割合	≤ 0.2%
陰性コントロール	カバレッジが100以上の塩基の割合	≥ 90%
	NTC（No Template Control）についてフィルターを通過したリード総数	≤ 29,000,000
	NTC（No Template Control）についてカバレッジの中央値	≤ 8
	キメリックリード（Chimeric Reads）の割合*又はキメリックリード（Chimeric Reads）総数*	≤ 0.3% ≤ 500

*いずれの指標も満たさなかった場合、品質管理基準について不合格と判定される。

<RNA検体>

品質管理指標		規格
シーケンス	フィルターを通過したリードの割合	≥ 80.0%
	リード1におけるクオリティスコアがQ30以上の塩基の割合	≥ 80.0%
	リード2におけるクオリティスコアがQ30以上の塩基の割合	≥ 80.0%
陽性コントロール	フィルターを通過したリード総数	≥ 15,800,000
	フラグメントのサイズ（塩基数）の中央値	92 ~ 139塩基

品質管理指標		規格
	カバレッジが500以上の遺伝子の変動係数（Coefficient of Variation; CV）の中央値	≤ 0.81%
	キメラックリード（Chimeric Reads）の割合	≤ 0.20%
	感度（検出が期待される既知バリエーション数に対する検出された既知バリエーション数の割合）	≥ 0.85
	精度（総バリエーションコール数に対する正しいバリエーションコール数の割合）	≥ 1
	ターゲット領域にアラインメントされたリードの割合	≥ 73
陰性コントロール	NTC（No Template Control）についてパスフィルターを通過したリード総数	≤ 3,600,000

本品プログラムの仕様

遺伝子異常情報をがん種等の情報を含み正しく分類されたファイルを作成する。

<解析工程の基準>

1) 正確性試験

FFPE組織検体由来の核酸（DNA及びRNA）を、検証済みの参照法及び本品により測定し、真の陽性、真の陰性、偽陽性及び偽陰性の数を測定した。該当する場合は陽性及び陰性の一致率（PPA及びNPA）を計算し、ライブラリの有効率を算出した。

バリエーションタイプ	基準	判定基準	% Agreement (95%信頼区間の下限値)*
Small DNA Variant	PPA (体細胞変異)	≥80% (両側95%信頼区間の下限値)	85% (382/451) 95% CI: 81%
	NPA	≥99.95% (点推定値)	99.999% (33163/33224)
CNV	PPA	≥60% (95%信頼区間の下限値)	92% (337/365) 95% CI: 89%
	NPA	≥95% (点推定値)	98.3% (24,000/24,415)
遺伝子融合及びスプライス・バリエーション	PPA	≥60% (95%信頼区間の下限値)	80% (70/87) 95% CI: 71%
	NPA	≥95% (点推定値)	99.8% (14106/14125)

* 95% Wilson - score 信頼区間

パネル全体の Small DNA Variant、CNV、及び遺伝子融合とスプライス・バリエーションの PPA 及び NPA はすべて基準を満たし、対照法と比較した真度が確認された。

2) 分析特異性（プローブ分析）試験

プローブ設計のための領域をすべて列挙して反応特異性を評価した。パネル上のプローブが標的遺伝子を十分にカバーできるよう、プローブの両側を20bpずつ伸ばし、すべての標的領域が単一塩基レベルですべてカバーをされているかの確認を行った。加えて、カバレッジ領域が低値を示す原因を調査、確認した。

結果、評価したシーケンスの品質はすべて規格を満たした。本品のプローブは合計で2,678,402塩基をカバーし、パネル全体でプローブがカバーしていない塩基は978塩基（＜0.05%）であり、網羅性が確認された。

3) 妨害物質試験

2つの内因性物質（メラニン及びヘモグロビン）及び3つの外因性物質（エタノール、キシレン及びプロテイナーゼK）が、本品の性能に影響を与えるかどうか調査した。2つの内因性物質（メラニン及びヘモグロビン）を核酸抽出処理中にスパイクし、3つの外因性物質（エタノール、キシレン及びプロテイナーゼK）をライブラリ調製前に精製された核酸にスパイクした。また本品に対する壊死の影響を調べるために、組織の壊死含有量が異なる検体を用いて調査した。

結果、壊死の影響について、壊死組織面積が23%を超える

検体の場合、CNV及び融合について偽陰性の可能性がある。

4) 交差汚染試験

32個のDNAライブラリと32個のRNAライブラリを、ライブラリ調製ごとに、SeraCareとFFPEの検体を交互に並べるチェックボードレイアウトに従って調製し、well-to-well汚染を評価した。各ライブラリを4回のシーケンシングランに分けた。ライブラリは、シーケンシングランごとに8つのDNA+8つのRNAライブラリでシーケンスされ、同じライブラリのプールを同じNextSeq 550 Dxシステムで連続してシーケンスし、シーケンシングのrun-to-run汚染を評価した。

検体	ライブラリ評価対象	予期せぬ変異体によるライブラリの汚染	汚染QCで見逃されたライブラリの汚染
FFPE DNA	96	0	0
SeraCare DNA	96	0	0
FFPE RNA	96	0	N/A
合計	288	0	0

検出された変異体を検討した結果、汚染事象は認められなかった。交差汚染の発生率は0/288 = 0%で、95%両側Wilson Score信頼区間は [0%、1.3%] であった。

5) 試薬の安定性試験

本品の試薬の3ロットを用いてリアルタイム安定性試験を実施し、試薬の有効期間を設定した。試験の結果、24か月までの有効期限を有するとした。本試験の評価には、(3)性能の項にある<DNA検体>及び<RNA検体>の規格を引用した。

6) 最小検出感度（LoD）試験

Small DNA Variant（SNV、MNV及びIndel）、CNV、融合及びスプライス・バリエーションのLoDは、標的バリエーションを有するFFPE臨床検体又はFFPE細胞株を用い、バリエーションが少なくとも95%の検出率で検出される最低の希釈濃度（以後、C95と表記）を決定することにより確立した。特定のバリエーションは稀でありFFPE組織が調達できないため、FFPE細胞株を用いてC95を検証した。LoD試験では基本的にすべてのバリエーションの検証でヒットレート法を用いた。

Small DNA Variant

変異クラス/ゲノムコンテキスト	遺伝子名	バリエーション	Mean VAF	Range VAF
塩基置換	IDH1	R132H	0.064	0.032 - 0.079
	EGFR	L858R	0.016	0.01 - 0.028
	BRAF	V600E	0.019	0.01 - 0.036
塩基置換 (2-3bp)	BRAF	V600K	0.022	0.018 - 0.031
	KRAS	G12I	0.048	0.019 - 0.06
挿入(1-2bp)、ホモポリマーリピートの近傍	ARID1A	Q372fs*28	0.086	0.058 - 0.109
	APC	T1556NfsTer3	0.104	0.052 - 0.167
挿入(1-2bp)、ジヌクレオチドリピートの近傍	APC	S1465fs*9	0.038	0.029 - 0.049
	NOTCH1	R1598fs*12	0.051	0.041 - 0.062
挿入(3-5bp)	FBXW7	T15_G16insP	0.030	0.019 - 0.043
	TP53	R333HfsTer5	0.056	0.036 - 0.078
挿入(>5-25bp)	TP53	P152_P153dup	0.215	0.203 - 0.228
	PIK3R1	Y470_T471dup	0.036	0.02 - 0.061
	ERBB2	Y772_A775dup	0.034	0.025 - 0.042
欠失(1-2bp)、ホモポリマーリピートの近傍	APC	L1488fsTer19	0.100	0.069 - 0.125
	EP300	H2324fs*29	0.094	0.082 - 0.107
欠失(1-2bp)、ジヌクレオチドリピートの	TP53	R342fs*3	0.033	0.024 - 0.043
	APC	S1465WfsTer3	0.070	0.059 - 0.079

Assay Workflow Guide 等の取扱説明書を必ずご参照ください。

変異クラス/ ゲノム コンテキスト	遺伝子名	バリエント	Mean VAF	Range VAF
近傍				
欠失(3-5bp)	APC	L1488fs*18	0.028	0.02 - 0.035
	PTEN	T319fs*1	0.064	0.045 - 0.082
欠失(>5-25bp)	EGFR	E746_A750del	0.047	0.032 - 0.067
塩基置換	RET	C618R	0.046	NA
塩基置換	RET	M918T	0.038	NA
塩基置換(2-3bp)	RET	C634Y	0.035	NA
欠失(>5-25bp)	RET	D898_E901del	0.055	NA

CNV

遺伝子名	Fold change	Range Fold change
AKT2	1.828	1.803 - 1.849
AR	2.107	2.067 - 2.179
BRAF	1.457	1.424 - 1.500
BRCA2	1.431	1.418 - 1.462
CCND1	1.818	1.720 - 1.897
CCND3	1.585	1.558 - 1.624
CCNE1	1.516	1.455 - 1.554
CDK4	2.153	2.104 - 2.194
CDK6	1.921	1.905 - 1.936
CHEK1	1.984	1.925 - 2.032
CHEK2	2.071	2.025 - 2.101
EGFR	1.523	1.453 - 1.583
ERBB2	2.034	2.002 - 2.062
ERBB3	2.001	1.960 - 2.035
ERCC1	2.117	2.062 - 2.212
ERCC2	1.787	1.734 - 1.856
ESR1	1.541	1.505 - 1.567
FGF1	2.069	2.026 - 2.122
FGF10	1.873	1.829 - 1.915
FGF14	2.02	1.955 - 2.065
FGF19	2.083	2.047 - 2.145
FGF23	2.191	2.125 - 2.239
FGF3	1.843	1.795 - 1.920
FGF4	2.005	1.969 - 2.060
FGF5	1.489	1.436 - 1.540
FGF6	1.593	1.561 - 1.621
FGF7	1.538	1.509 - 1.566
FGF9	2.077	2.030 - 2.120
FGFR1	1.678	1.617 - 1.729
FGFR2	2.055	2.034 - 2.089
FGFR3	2.201	2.154 - 2.246
FGFR4	1.602	1.559 - 1.636
JAK2	1.683	1.558 - 1.778
KIT	1.966	1.897 - 2.021
KRAS	1.972	1.939 - 2.027
LAMP1	2.111	1.975 - 2.193
MDM2	1.581	1.492 - 1.676
MDM4	1.854	1.810 - 1.898
MET	2.195	2.119 - 2.262
MYC	2.075	2.048 - 2.108
MYCL	2.188	2.084 - 2.283

遺伝子名	Fold change	Range Fold change
MYCN	1.621	1.598 - 1.664
NRAS	1.478	1.421 - 1.518
NRG1	1.787	1.748 - 1.803
PDGFRA	1.465	1.434 - 1.495
PDGFRB	1.969	1.956 - 1.982
PIK3CA	1.609	1.567 - 1.649
PIK3CB	1.683	1.660 - 1.700
RAF1	1.496	1.459 - 1.524
RET	1.528	1.514 - 1.539
RICTOR	1.583	1.540 - 1.617
RPS6KB1	2.215	2.150 - 2.304
TFRC	1.578	1.531 - 1.612

融合遺伝子

標的遺伝子	融合遺伝子	C95	共通C95
EWSR1, FLI1	EWSR1-FLI1	8.3	yes
NOTCH2	ABCD3-NOTCH2	9.3	yes
RET	NCOA4-RET	10.0	yes
JAK2	JAK2;AL161450.1-PLCL2	10.3	yes
CDK4	CDK4-DPY19L2	10.7	yes
ABL1	ABL1-C6orf10	12.3	yes
TMPRSS2, ERG	TMPRSS2-ERG	13.2	yes
RPS6KB1	RPS6KB1-TBC1D22A	13.2	yes
KIF5B, RET	KIF5B-RET	14.5	yes
MYC	MRPL13-MYC	15.3	yes
ETV1	ACPP-ETV1	17.2	yes
FGFR3	FGFR3-TACC3	17.5	yes
KMT2A	TTC36-KMT2A	18.3	yes
EML4, ALK	EML4-ALK	20.2	yes
ESR1	ESR1-CCDC170	24.3	yes
AKT3	AKT3-ADSS	24.3	yes
EGFR	EGFR-GALNT13	24.0	yes
FGFR1	FGFR1-GSR	23.7	yes
FGFR2	FGFR2-SRPK2	24.7	no
AXL	HNRNPUL1-AXL	26.3	yes
NOTCH3	NOTCH3-ELAVL3;CTC-398G3.6	28.3	no
NRG1	SPIDR-NRG1	28.2	yes
ROS1	CD74-ROS1;GOPC	28.2	yes
RAF1	RAF1-VGLL4	28.5	yes
ETV5	CSNK1D-ETV5	28.5	yes
ETV4	DHX8;ETV4-STAT3	30.5	yes
BRAF	MKRN1-BRAF	31.2	yes
FLT1	PSPC1-FLT1	38.7	yes
BCL2	BCL2-IGHJ5	44.2	no
PAX3	PAX3-FOXO1	54.7	yes
MLLT3	MLLT3-AQP7	未決定	yes
AR	AR-CGGBP1;ZNF654	未決定	yes
MET	MET-MKLN1; MKLN1-AS2	N/A	N/A
ERBB2	ERBB2-ILIRAPL2	未決定	no
PPARG	PPARG-C3orf83;MKRN2	N/A	N/A

スプライス・バリエント

遺伝子	平均 Supporting Reads	Range Supporting Reads
EGFR	24.8	19-31
MET	18.7	11-37

結果として、パネル全体のSmall DNA Variant、CNV、融合遺伝子及びスプライス・バリエントのLoDを確立、確認した。
 なお、6検体（正常組織：4検体、良性組織（非癌性腫瘍）：2検体）を用いた検討により、LoBの偽陽性率は5%未満であった。

【保管方法及び有効期間等】

保管方法の条件は、以下のとおり試薬ごとに定められている。

試薬名	保存条件
TruSight Oncology Comp RNA Library Prep (1/8)	-25 ~ -15°C
TruSight Oncology Comp Library Prep (2/8) (凍結)	-25 ~ -15°C
TruSight Oncology Comp Library Prep (3/8) (冷蔵)	2 ~ 8°C
TruSight Oncology Comp UP Index Primers (4/8)	-25 ~ -15°C
TruSight Oncology Comp CP Index Primers (5/8)	-25 ~ -15°C
TruSight Oncology Comp Enrichment (6/8) (冷蔵)	2 ~ 8°C
TruSight Oncology Comp Enrichment (7/8) (凍結)	-25 ~ -15°C
TruSight Oncology Comp Content Set (8/8)	-25 ~ -15°C
TruSight Oncology RNA Control	-85 ~ -65°C
TruSight Oncology DNA Control	-25 ~ -15°C

有効期間

24か月

※使用期限は外装に記載している。

【保守点検に係る事項】

1. 使用者による保守点検事項
本解析プログラム起動毎に、モニタに初期画面が正常に表示されることを確認すること。
2. 業者による保守点検事項
特になし。

【承認条件】

がんゲノム医療に関連する十分な知識及び経験を有する医師が、関連学会の最新のガイドライン等に基づく検査の対象及び時期を遵守した上で、がんゲノム医療中核拠点病院等の整備に関する指針に従い、がんゲノムプロファイリング検査に基づく診療体制が整った医療機関で本品を用いるよう、必要な措置を講ずること。

【主要文献及び文献請求先】

次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドライン改訂第2.1版（日本臨床腫瘍学会・日本癌治療学会・日本癌学会）

一般社団法人 日本癌学会：<https://www.jca.gr.jp/>

一般社団法人 日本癌治療学会：<http://www.jsco.or.jp/jpn/>

公益社団法人 日本臨床腫瘍学会：<https://www.jsmo.or.jp/>

【製造販売業者及び製造業者の氏名又は名称等】

製造販売業者：イルミナ株式会社

〒108-0014

東京都港区芝五丁目36番7号 三田ベルジュビル

電話：03-4578-2800（代表）

製造業者（国名）：

Illumina Inc (USA)

問い合わせ先

イルミナ株式会社 テクニカルサポート

〒108-0014

東京都港区芝五丁目36番7号 三田ベルジュビル22階

電話：0800-111-5011（フリーダイヤル）

E-mail：techsupport@illumina.com