

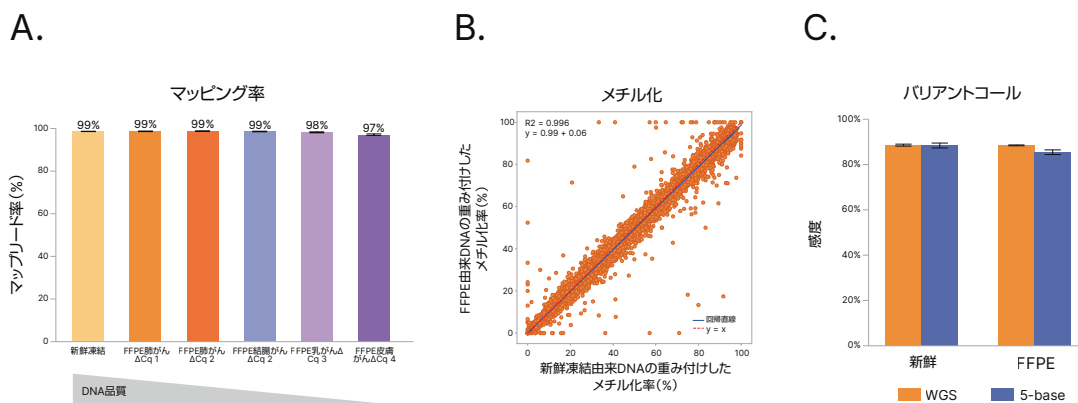
FFPEサンプル中の体細胞バリエント およびメチル化シグネチャーを 一つのアッセイで同時検出

Illumina 5-Base DNA Prep

ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織検体は、がん研究におけるゲノム材料の貴重な供給源です。しかし、FFPE DNAの品質劣化により、これらのサンプルの包括的な分子プロファイリングは困難です。

Illumina 5-Base DNA Prepは、全ゲノムシーケンス (WGS) とメチル化シーケンスを1つの効率的なアッセイに統合します。シングルステップで行う穏やかなメチル化塩基変換は、DNAの完全性を保持し、FFPEサンプルからの検出力を最大限に高めます。Illumina 5-Base DNA Prepを用いることで、高精度のメチル化洞察と体細胞バリエントコールを取得できます。

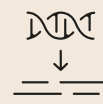
Illumina 5-Base DNA PrepはFFPEサンプル対応



(A) 新鮮凍結細胞株由来および肺がん、結腸がん、皮膚がんおよび乳がんのFFPE DNA由来のゲノムDNA (gDNA) を、Illumina 5-Base DNA Prepを用いて調製しました。すべてのサンプルタイプから、マッピング率が97%を超える、高い複雑性のあるライブラリーが得られました。(B) FFPE処理を模倣するために、新鮮凍結がん細胞株をホルマリン固定パラフィン包埋しました。メチル化測定および (C) 1塩基変異 (SNV) 検出は、新鮮凍結細胞株とFFPE間で一致し、メチル化変換なしのWGSと同等の性能が認められました。サンプルは約37 ×カバレッジ (500Mクラスター) で、NovaSeq Xシリーズでシーケンスしました。



サンプル調製
FFPE DNAの
抽出



ライブラリー調製
Illumina 5-Base
DNA Prep



シーケンス
NovaSeq™ X
シリーズ



データ解析
DRAGEN™
二次解析

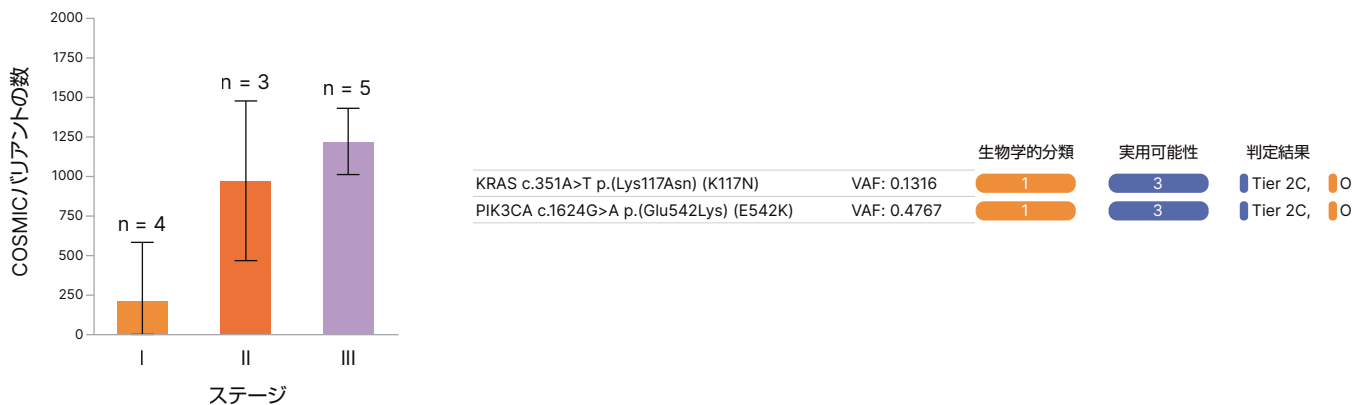


結果の解釈
Illumina Connected
Multiomics

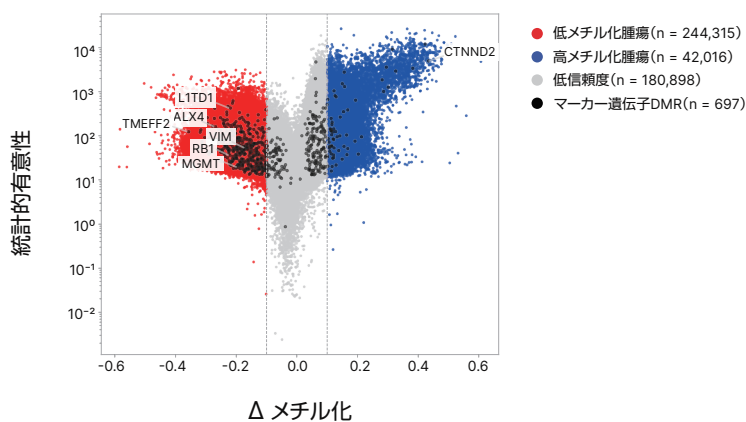
illumina 5-Base DNA Prepによる、FFPE組織由来の結腸がん (CRC) のゲノムシグネチャーとエピゲノムシグネチャーの検出

CRC組織および隣接する正常組織のFFPEサンプル由来のDNAを、illumina 5-Base DNA Prepを用いて調製し、5塩基認識DRAGENアルゴリズムで解析し、バリエントコールおよびメチル化結果を同時に生成しました。Tumor-Normal解析により、各腫瘍に特異的ながん関連バリエントが同定されました。illumina Connected Multiomicsでゲノムワイドのメチル化プロファイル解析し、腫瘍とそれに対応する正常FFPEサンプル間の差別的メチル化領域(DMR)を同定し、主成分分析(PCA)を実施しました。

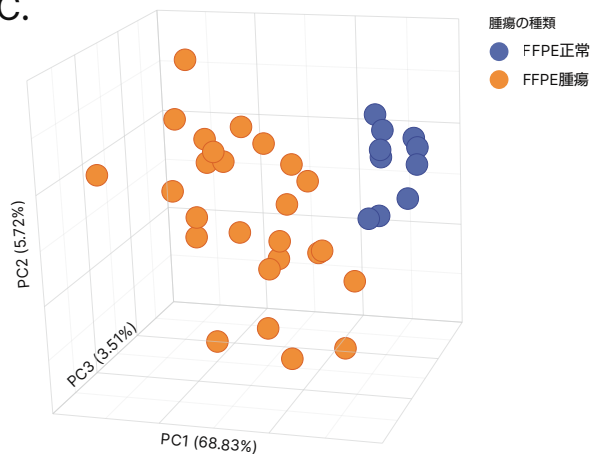
A.



B.



C.



(A) illumina Connected Insightsを用いて実施したバリエント解析では、COSMICデータベース中のバリエントと重複する、腫瘍特異的なスモールバリエントが認められました。エラーバーは、がんステージごとに分類した異なる腫瘍サンプルの標準偏差を示しています。右側のスクリーンショットは、腫瘍サンプル中で発がん性として分類された、2つのスモールバリエントの検出例を示しています。(B) Tumor-Normal解析で検出されたDMRのボルケーノプロットは、低メチル化DMR(赤)および高メチル化DMR(青)のどちらも正確に同定できていることを示しています。(C) CRC FFPEサンプルと対応する隣接正常FFPEサンプルのメチル化プロファイル別のPCAクラスタリング。すべてのサンプルは、NovaSeq Xシリーズで150~200 xカバレッジでシーケンスしました。二次解析にはDRAGEN Somaticパイプラインv4.4.6を使用しました。

* COSMIC: Catalogue of Somatic Mutations in Cancer.

FFPEサンプルに対応したillumina 5-Base DNA Prepの使用方法については、イルミナの推奨プロトコルをご参照ください



illumina 5-Base DNA Prepの詳細はこちら →

jp.illumina.com/5-base